



8<sup>ÈMES</sup>

ASSISES DE GÉNÉTIQUE HUMAINE ET MÉDICALE  
LYON, CITÉ INTERNATIONALE 3, 4 ET 5 FÉVRIER 2016

[www.assises-genetique.org](http://www.assises-genetique.org)

# RECUEIL DES COMMUNICATIONS

COMPLIANT APPROVED BY



Infos générales & inscriptions: [mary.abbas@mcocongres.com](mailto:mary.abbas@mcocongres.com)  
Infos sponsoring & partenariat: [natalie.ruxton@mcocongres.com](mailto:natalie.ruxton@mcocongres.com)





8<sup>ÈMES</sup>

ASSISES DE GÉNÉTIQUE HUMAINE ET MÉDICALE  
LYON, CITÉ INTERNATIONALE 3, 4 ET 5 FÉVRIER 2016

[www.assises-genetique.org](http://www.assises-genetique.org)

PLÉNIÈRES

COMPLIANT APPROVED BY



Infos générales & inscriptions: [mary.abbas@mcocongres.com](mailto:mary.abbas@mcocongres.com)  
Infos sponsoring & partenariat: [natalie.ruxton@mcocongres.com](mailto:natalie.ruxton@mcocongres.com)



## PLÉNIÈRE N°1 THÉRAPIES ET MÉDECINE PERSONNALISÉE

**Oncologie**

**Jean-Yves BLAY (Lyon)**

---

TEXTE NON PARVENU

## Thérapie des maladies ophtalmologiques

### José-Alain SAHEL

Institut de la Vision, Sorbonne Universités, UPMC Univ Paris 06, INSERM, CNRS, CHNO des Quinze-Vingts, Fondation Ophtalmologique A. de Rothschild, Paris, France.

---

Les rétinopathies pigmentaires représentent un groupe de maladies génétiques caractérisées par la dégénérescence progressive des photorécepteurs. La perte des bâtonnets suivie par la perte des cônes se manifeste par une perte de la vision nocturne et un rétrécissement du champ visuel suivi par la perte de la vision centrale. Aujourd'hui, de nouvelles technologies peuvent restituer ou compenser, au moins en partie, la perte visuelle et redonner une vision « partielle » à des patients aveugles. Des thérapies géniques innovantes concernant différentes dystrophies rétiniennes -l'amaurose congénitale de Leber, la maladie de Stargardt, le syndrome d'Usher- sont actuellement en cours d'évaluation pour vérifier la sécurité du traitement et la tolérance des patients. La thérapie génique est confrontée cependant à différents problèmes majeurs, dont le principal est l'hétérogénéité génétique. Il existe par ailleurs des stratégies nouvelles qui sont indépendantes des mutations. Une stratégie de criblage a permis d'identifier une protéine, RdCVF (Rod-derived Cone Viability Factor), sécrétée et exprimée spécifiquement par les bâtonnets. Son rôle serait de permettre la survie des cônes et leur fonctionnement normal. Le transfert de gène codant RdCVF et son expression par AAV est une stratégie prometteuse. Les prothèses rétiniennes proposent de réintroduire des informations visuelles dans le circuit rétinien résiduel lorsque survient une dégénérescence des photorécepteurs. Ces prothèses peuvent être implantées soit à la surface de la rétine (implant épirétinien), soit sous la rétine (implant sous-rétinien). L'optogénétique, enfin, propose une approche alternative mutation-indépendante dans laquelle un optogène (halorhodopsine, channelrhodopsine) issu d'une bactérie ou d'une algue est transféré dans les cellules de la rétine pour réactiver les photorécepteurs « dormants » ou transformer certaines cellules rétiniennes en photorécepteurs. Cette stratégie a déjà été testée chez des souris aveugles. Des études précliniques de toxicité et de tolérance immunitaire sont en cours.

## **Enjeux éthiques de la médecine personnalisée : un cadre re-questionné ?**

**Anne CAMBON-THOMSEN (Toulouse)**

Directrice de recherche émérite au CNRS, UMR 1027 Inserm et Université Toulouse III Paul Sabatier, Faculté de médecine Toulouse Purpan

---

La question que j'aimerais aborder est la suivante : en quoi les développements de la médecine personnalisée réinterrogent-ils les cadres classiques de l'éthique biomédicale en clinique et en recherche? L'expression « médecine personnalisée » s'est installée en oncologie avec l'émergence des thérapies ciblées à la fin des années 90, notamment avec l'utilisation de l'Herceptine pour traiter le cancer du sein. Les patients peuvent aujourd'hui bénéficier des traitements les plus nouveaux si les analyses de leur tumeur révèlent la présence d'anomalies génétiques curables par l'une des thérapies ciblées existantes. Mais le champ couvert est plus vaste et global. On parle de médecine stratifiée, médecine 4P (personnalisée, préventive, prédictive et participative) ou médecine de précision pour désigner la démarche qui s'attache à déterminer les meilleures options de prise en charge médicale en fonction des caractéristiques biologiques et génétiques de la personne, de son environnement et de son mode de vie. On utilise de nouveaux outils technologiques, comme le séquençage du génome à haut, voire très haut débit ; l'utilisation de biomarqueurs variés et de bases de données est au cœur de l'exercice. Nous avons en effet un cadre de lecture beaucoup plus massif mais en même temps beaucoup plus précis qu'auparavant. La médecine dite personnalisée amène un bouleversement d'ensemble du secteur de la santé depuis la formation des personnels jusqu'à leur relation avec les patients ; se transforment aussi les modes de développement des nouvelles molécules. Conçues pour un nombre réduit de patients, les thérapies ciblées sont très coûteuses et il est difficile aujourd'hui d'évaluer les conséquences économiques d'un tel modèle.

### **Ainsi seront abordés quelques domaines re-questionnés**

- . La place des données biologiques, et génétiques en particulier, dans la médecine.
  - . L'interprétation, la gestion et l'usage des données accumulées et croisées
  - . La relation médecin – patient.
  - . le droit de ne pas savoir
  - . La responsabilisation des personnes vis-à-vis de leur santé.
  - . Les aspects d'équité dans les soins et l'accès au soin.
  - . La porosité entre recherche et exercice clinique : On constitue des bases de données provenant d'un exercice clinique (pour l'utilisation desquelles le patient a donné son consentement) et de données issues de projets de recherche. Dans ce contexte, la connaissance ne naît plus d'un protocole de recherche établi a priori, mais bien de l'analyse de la fouille des données ainsi accumulées.
- Au-delà de ces aspects qui sont déjà d'actualité clinique aussi bien que de considérations au plus haut niveau politique dans notre pays, d'autres enjeux éthiques se profilent. Certains progrès technologiques comme le système CRISPR/Cas9 qui rend possible de muter, de réparer ou d'introduire des séquences exogènes d'ADN en tout point du génome avec une précision parfaite réinterrogent nos cadres éthiques. Appliqués aux cellules germinales ou embryonnaires pour certaines maladies ils pourraient permettre dans le futur, de modifier le génome de façon transmissible aux générations suivantes. Cette perspective et les profonds questionnements éthiques qu'elle suscite a motivé la SFGH (Société française de génétique humaine) et la SFTCG (Société française de thérapie cellulaire et génique) à mettre en place un groupe de travail sur ce sujet, à l'instar d'autres organisations au plan national et international.

**From pluripotent stem cells to cortical circuits.  
Cellules souches cérébrales et reconstruction de cortex**

**Pierre VANDERHAEGHEN (Belgique)**

WELBIO, IRIBHM AND ULB NEUROSCIENCE INSTITUTE, UNIVERSITÉ LIBRE DE BRUXELLES,  
BELGIUM

---

The cerebral cortex consists of several hundreds of different types of neurons, organized into specific cortical layers and areas, that display specific profiles of gene expression, morphology, excitability and connectivity.

Embryonic stem (ES) and induced (IPS) pluripotent stem cells constitute a promising tool for the modelling and treatment of human neural diseases. Here we will describe how corticogenesis from pluripotent stem cells can be used to identify novel mechanisms underlying human neurodevelopmental diseases and how the transplantation of ES/iPS cell-derived cortical neurons can lead to functional integration into developing and damaged cortical circuits.

## PLÉNIÈRE N°2 ÉPIGÉNÉTIQUE

**Contaminant physique et chimique, épigénétique et santé des populations**

**Johanna LEPEULE (Grenoble)**

---

TEXTE NON PARVENU

## **Remote control of gene expression - can chromosome folding explain enhancer function?**

### ***Organisation chromatinienne et expression des gènes***

**Wendy BICKMORE (UK)**

MRC Human Genetics Unit, IGMM, University of Edinburgh, UK

---

Long-range gene regulation first became apparent in mammalian genomes through Mendelian disease genetics associated with extreme phenotypes in human, and developmental genetics in the mouse. It is now appreciated that long-range enhancers - found as far away as 1 megabase from their target gene and located either in intergenic regions or in introns - are key in controlling the precise spatial and temporal expression of genes. Deletion, translocation or point mutations can abrogate the function of these elements in Rare Disease. However, the majority of human genetic variation associated with common and complex disease and quantitative traits also maps to intergenic regions that are likely the site of enhancers. Therefore, lessons learnt from studying enhancer dysfunction in rare disease will be important for an understanding of milder phenotypes.

It is hard to envisage how distant enhancers function if one only considers the genome as a linear DNA sequence. Rather, three-dimensional chromatin folding must play a fundamental role in enhancer-promoter communication. I will describe our work using different experimental approaches to investigate the three-dimensional folding of the mammalian genome at genetically defined long-range regulatory elements important in development.

## **Analyse de l'épigénome pour le diagnostic et le traitement des maladies complexes - état de l'art et attentes**

**Jörg TOST (Paris)**

Laboratoire d'Épigénétique et Environnement, Centre National de Génotypage, CEA - Institut de Génomique, Evry, France

---

Les modifications épigénétiques ajoutent à la simple séquence génomique des couches d'informations supplémentaires, étendant ainsi considérablement le potentiel informatif du code génétique. Ce domaine a pris une grande ampleur ces dernières années et il est devenu clair que l'épigénétique joue un rôle clé dans le développement normal ainsi que dans les maladies. La révolution technologique du séquençage massivement parallèle, qui permet l'examen de multiples modifications épigénétiques en utilisant les mêmes technologies analytiques, ainsi que le développement des technologies avancées à haut débit d'épigénotypage a énormément accéléré nos connaissances sur les mécanismes de régulation des gènes. La méthylation de l'ADN se produisant au niveau des dinucléotides CpG est probablement la modification épigénétique la mieux étudiée en raison de la cartographie étendue de la méthylation d'ADN dans différentes maladies. Les biomarqueurs basés sur la méthylation de l'ADN portent la promesse de contenir des informations précieuses pour le diagnostic précoce, le pronostic, la classification de la maladie et pourraient aider à prédire la réponse au traitement. La méthylation de l'ADN ajoute ainsi des informations précieuses à la compréhension des processus pathologiques qui ne peuvent pas être obtenus par une analyse uniquement génétique ou transcriptomique. Bien que la recherche épigénétique ait d'abord mis l'accent sur l'analyse des altérations épigénétiques dans le cancer, au cours des dernières années la recherche a démontré que des modifications sont également présentes dans la quasi-totalité des maladies complexes comprenant les maladies auto-immunes et inflammatoires, les troubles allergiques ainsi que les maladies neurodégénératives et les troubles psychologiques. Ces résultats ont suscité un grand enthousiasme dans la communauté scientifique, mais la recherche en épigénétique est également associée à un certain nombre de défis, qui sont parfois mis de côté. Les modifications épigénétiques sont spécifiques à un type cellulaire et pour de nombreuses maladies, le type de cellule approprié à la maladie est inconnu ou ne peut pas être obtenu pour l'étude sur de grandes cohortes humaines. Il fait encore débat si des tissus plus facilement accessibles tels que le sang peuvent représenter valablement le tissu de la maladie concernée. En outre, pour de nombreuses cohortes, l'ADN a déjà été extrait et la composition cellulaire de l'échantillon d'origine est inconnue. A noter que les différences dans la composition des cellules du PBMC peuvent conduire à des changements significatifs dans les niveaux de méthylation. En outre, les changements observés pour la plupart des CpG différemment méthylés trouvés dans des maladies complexes sont petites, ce qui complique une explication mécanistique. Pour de nombreuses analyses, il sera difficile de définir si les changements observés sont la conséquence ou la cause de la maladie. Toutefois, un échantillonnage des cohortes longitudinales appropriée pour l'analyse épigénétique est en cours et la prise de conscience croissante des différents défis ouvrira la voie à de plus solides études d'association sur l'épigénome entier, ce qui fera progresser notre compréhension des mécanismes des maladies et fournira de nouvelles cibles pour une intervention thérapeutique. En parallèle, la thérapie épigénétique et l'ingénierie de l'épigénome utilisant l'approche CRISPR/dCas9 ont récemment fait de grands progrès. Il est désormais possible de moduler les modifications épigénétiques à un locus spécifique, et cette approche pourrait être d'un grand intérêt potentiel pour les maladies chroniques et complexes sans mutations ciblables, mais avec un paysage épigénétique profondément modifié comme les maladies auto-immunes, inflammatoires et allergiques.

## **Au delà des gènes : Mécanismes épigénétiques des effets transgénérationnels des traumatismes chez la souris**

**Isabelle MANSUY (Zürich, Suisse)**

Brain Research Institute, University/ETH Zürich

---

Le comportement des mammifères est fortement influencé par les expériences personnelles et les facteurs environnementaux, tout particulièrement pendant l'enfance et l'adolescence. Alors que des expériences positives permettent le développement de réponses comportementales normales et adaptées qui persistent toute la vie, des événements traumatiques ou stressants altèrent le comportement et peuvent conduire à des maladies psychiatriques comme la dépression, des troubles de la personnalité et de stress post-traumatique, et des psychoses. Ces pathologies, prononcées chez les personnes directement exposées, peuvent être transmises aux générations suivantes. Les mécanismes biologiques de la transmission transgénérationnelle des effets des traumatismes impliquent des mécanismes non-génétiques. Cette présentation décrira un modèle expérimental de traumatisme précoce chez la souris ayant des symptômes dépressifs, des comportements antisociaux et des déficits cognitifs à l'âge adulte, et sont transmis à la progéniture sur plusieurs générations. Ces symptômes sont associés à des altérations épigénétiques impliquant la méthylation de l'ADN, des ARNs non-codants et des modifications post-traductionnelles des protéines histones dans le cerveau et les cellules germinales. Ces résultats suggèrent que les mécanismes épigénétiques jouent un rôle important dans l'impact des facteurs environnementaux sur le comportement adulte et son héritabilité, et révèlent certains de ces mécanismes.

## PLÉNIÈRE N°3 NEUROGÉNÉTIQUE

### Human type I interferonopathies

**Yanick CROW (Paris)**

---

Dissection of the genetic basis of Aicardi-Goutières syndrome has highlighted a fundamental link between nucleic acid metabolism and type I interferon induction, leading to the concept of the human interferonopathies, a broader set of Mendelian disorders where disease pathology relates to a primary upregulation of type I interferon activity. Here I discuss the clinical phenotypes associated with these novel inborn errors of immunity, their pathological basis, and future strategies for their treatment.

## Epilepsies humaines et gènes, vingt ans après : points clés et points obscurs

Pierre SZEPETOWSKI (Marseille)  
INMED, INSERM U901, Marseille

---

Les épilepsies représentent une des maladies neurologiques les plus fréquentes (0,5 à 1% de la population générale, 50.10<sup>6</sup> personnes dans le monde, 6.10<sup>6</sup> en Europe, 400.000 en France). D'après un récent rapport de l'OMS, le coût annuel de l'épilepsie en Europe dépasse €20.10<sup>9</sup>. Dans 30% des épilepsies, la réponse aux traitements anti-épileptiques actuels n'est pas satisfaisante. Il s'agit donc d'un enjeu majeur tant épidémiologique qu'en terme de santé publique, ainsi qu'aux niveaux médical et scientifique.

La forte composante génétique des épilepsies humaines est largement reconnue. Depuis l'identification en 1995 du premier gène (*CHRNA4*) responsable d'une forme d'épilepsie dite 'idiopathique', plusieurs étapes, rythmées par les progrès technologiques, se sont succédé, conduisant à une image globale plus complexe et diversifiée qu'initialement anticipée. Parmi les faits marquants qui ont émaillé ces vingt dernières années, figure évidemment la notion que certaines épilepsies sont bien des *channelopathies*, comme cela était attendu compte tenu du rôle des canaux ioniques voltage ou ligand-dépendants dans l'excitabilité neuronale. Ainsi, sous-unités de divers canaux ioniques voltage-dépendants (potassiques : *KCNQ2*, *KCNQ3*, *KCNT1*... ; sodiques : *SCN1A*, *SCN1B*, *SCN2A*...) ou ligand-dépendants (récepteurs de l'acétylcholine : *CHRNA4*, *CHRNA2*... ; du GABA : *GABRA1*, *GABRG2* ; du glutamate : *GLUN2A*) sont-elles mutées dans divers types de syndromes épileptiques monogéniques. Plus récemment, des gènes aux rôles développementaux et fonctionnels plus divers (*LGI1*, *PCDH19*, *GLUT1*, *PRRT2*, *DEPDC5*, *STX1B*...), identifiés dans des formes d'épilepsies monogéniques là aussi rares, ont suggéré des mécanismes physiopathologiques plus ou moins originaux, et ont parfois conduit à proposer des stratégies thérapeutiques en rapport.

Au cours des trois dernières années, de très importants progrès ont notamment été réalisés dans le domaine des encéphalopathies épileptiques, dont l'étiologie monogénique a pu être démontrée, en tout cas pour un grand nombre d'entre elles ; des dizaines de gènes sont à ce jour identifiés, certains d'entre eux (*SCN1A*, *KCNQ2*, *GRIN2A*...) pouvant d'ailleurs aussi sous-tendre des syndromes épileptiques beaucoup moins sévères. Un exemple édifiant est celui des encéphalopathies du spectre des épilepsies-aphasies, pour lesquelles un mécanisme auto-immun, entre autres, était proposé depuis plus de cinquante ans ; on sait maintenant que des mutations du gène *GRIN2A*, héritées ou *de novo*, en sont la cause la plus fréquente connue à ce jour.

A côté de ces nombreuses formes d'épilepsies rares d'origine monogénique, l'identification définitive de variants génétiques de susceptibilité, participant aux épilepsies plus communes et plus fréquentes, reste relativement décevante, que ce soit à travers les études d'association génétique pan-génome que par le biais des séquençages d'exomes complets, alors que les études de cytogénétique moléculaire ont, elles, souligné le rôle probable de certaines microdélétions (15q11.2, 15q13.3, 16p13.11...), celles-ci sous-tendant par ailleurs souvent un phénotype neurodéveloppemental assez divers.

L'image actuelle des épilepsies, déjà très hétérogènes cliniquement, est celle d'une grande hétérogénéité génétique, et d'une grande pleiotropie des mutations - bref, d'une grande complexité. Au moins dans certains cas (*KCNA2*, *GRIN2A*), gain et perte-de-fonction semblent pouvoir conduire à des phénotypes similaires voire identiques. A un gène, voire à une mutation précise, peuvent correspondre plusieurs syndromes épileptiques, des degrés de sévérité très différents, voire plusieurs conditions pathologiques épileptiques et non-épileptiques diversement associées chez un même patient ou dans une même famille, l'origine de cette variabilité restant obscure. Ainsi, par exemple, une seule et même mutation

récurrente du gène *PRRT2* peut-elle causer convulsions infantiles, dyskinésies paroxystiques, ou migraines hémiplegiques. Les liens entre épilepsies et différentes autres pathologies cérébrales, que la cause en soit génétique ou non, s'inscrivent sans doute en partie dans le contexte d'une origine neurodéveloppementale commune, rendant ainsi pertinentes la mise au point de stratégies de sauvetage précoces dans les modèles animaux adéquats.

## **Thérapie génique dans la myopathie myotubulaire**

**Anna BUJ BELLO (Paris)**

Généthon, INSERM U951, Evry

---

La myopathie myotubulaire (XLMTM) est une maladie génétique rare et sévère de la musculature squelettique, due à des mutations du gène de la myotubularine (MTM1). Les garçons atteints manifestent dès la naissance une importante faiblesse musculaire, une hypotonie et une détresse respiratoire. Dans la majorité des cas, l'évolution est fatale dans les premières années de vie. Aucun traitement curatif n'est disponible à ce jour.

Nous avons développé une approche de thérapie génique pour cette myopathie et montré l'efficacité d'une injection intraveineuse unique d'un vecteur viral adéno-associé (AAV) exprimant la myotubularine dans les muscles de souris et de chiens porteurs d'une mutation MTM1. Nos résultats sur une étude cherchant à définir la dose thérapeutique chez le modèle canin seront aussi présentés. Ces travaux précliniques nous permettent d'envisager un essai clinique chez les patients atteints de myopathie myotubulaire.

## Génétique et maladie d'Alzheimer

**Dominique CAMPION (Rouen)**

Inserm U 1079, Faculté de médecine. Rouen

---

Le déterminisme génétique de la maladie d'Alzheimer, qui touche 800 000 personnes en France, est complexe et se caractérise par la présence :

- De formes autosomiques dominantes rares ( moins de 1000 patients) avec un début précoce avant 60 ans et l'implication de 3 gènes codant pour le précurseur de l'amyloïde ( APP), et les présénilines 1 et 2.
- D'un facteur de risque fréquent de fort impact l'allèle 4 du gène de l'Apolipoprotéine E ( APOE). La fréquence des porteurs de cet allèle qui est de 23% dans la population générale passe à 52% chez les patients. Le risque est particulièrement important pour les homozygotes APO 4-4 avec un odds ratio (OR) qui atteint 15%. Le risque cumulé d'avoir développé la maladie pour les porteurs de ce génotype dépasse 50% à l'âge de 85 ans.
- D'une vingtaine de facteurs de risque fréquents de faible impact (OR de 1.1 en moyenne) mis en évidence par les études de GWAS menées sur de très importantes populations. Ces dernières années, les études se sont concentrées sur les variants rares de fort impact identifiés par séquençage d'exome. Plusieurs facteurs de risque de ce type ont récemment été caractérisés. Nous présenterons les résultats d'études cas-témoins et d'études de trios à la recherche de variants « de novo » en insistant sur les stratégies utilisées pour analyser ces données.

Les données génétiques confortent l'hypothèse du rôle central de la « cascade amyloïde » dans la physiopathologie de la maladie et ciblent un réseau de protéines impliquées dans le routage du précurseur de l'amyloïde ainsi que dans l'agrégation, la clairance ou la toxicité du peptide Ab, dérivant de ce précurseur.

# CONFÉRENCE TESTS D'ADN ET PRATIQUES JUDICIAIRES : L'UTILISATION DES MICROSATELLITES DANS UN CONTEXTE JUDICIAIRE

**Philippe DE MAZANCOURT (Boulogne)**

Université de Versailles St-Quentin et Hôpital Ambroise Paré, Boulogne.

---

Les empreintes génétiques ont pris une place prépondérante dans le déroulement de nombreuses enquêtes. La réalisation de telles analyses est encadrée par la loi qui ne retient que quatre indications (les enquêtes judiciaires au pénal, les analyses de paternité au civil, les analyses à but médical ou scientifique et l'identification des militaires décédés en opération). Les deux premiers cas imposent une mission ou réquisition par un magistrat ou un officier de police judiciaire et prévoient une habilitation distincte de celle délivrée à des fins médicales ou scientifiques. L'exploitation de l'ADN autoriserait de multiples méthodes, mais la création en 1998 du fichier national automatisé des empreintes génétiques (FNAEG) a sanctuarisé l'utilisation des microsateellites. Les textes régissant l'alimentation de ce fichier ont évolué au fil du temps. Actuellement, ce fichier, riche aujourd'hui de plus de 2 600 000 personnes et 200 000 traces, permet l'identification d'auteurs de crimes et délits par rapprochement entre les empreintes génétiques des traces relevées sur les scènes de crimes d'une part, et celles des personnes suspectes ou coupables d'infractions, délits et crimes justifiant l'enregistrement au fichier d'autre part. Plus de 75 000 rapprochements ont ainsi été réalisés.

Les laboratoires agréés (police, gendarmerie, publics et privés) participent aux deux volets (traces et personnes) de l'analyse génétique criminalistique. Les contraintes des unités dédiées à l'analyse des personnes (suspects et condamnés) sont celles d'unités de production à haut débit, automatisées, avec des critères de rentabilité omniprésents et une démarche d'assurance qualité drastique (ISO 17025).

Dans les unités dédiées à l'analyse des traces, dont le fonctionnement sera illustré par quelques exemples, les contraintes sont celles de l'analyse de faibles quantités d'ADN, souvent dégradé. La nature et le support des échantillons sont tellement variables que l'extraction d'ADN est peu propice à l'automatisation. La qualité des résultats et donc la possibilité de les exploiter seront conditionnées par une prévention renforcée des contaminations et par le choix de la méthode d'extraction, qui varie en fonction de la nature de la trace biologique, de sa quantité, de son ancienneté et de son support. Savoir-faire, précision et rigueur sont déterminants. La suite de l'analyse repose sur l'utilisation de trousseaux commerciaux d'amplification par PCR d'une vingtaine de marqueurs microsateellites multiplexés, nécessitant moins de 0,5 ng d'ADN, puis sur la séparation des amplicons fluorescents en électrophorèse capillaire. L'analyse à l'aide de séquenceurs de nouvelle génération va vraisemblablement supplanter l'analyse traditionnelle par PCR/électrophorèse capillaire, mais devra tenir compte du caractère immuable des microsateellites figurant au fichier et se conformer aux exigences de la norme ISO17025.



8<sup>èmes</sup>

ASSISES DE GÉNÉTIQUE HUMAINE ET MÉDICALE  
LYON, CITÉ INTERNATIONALE 3, 4 ET 5 FÉVRIER 2016

[www.assises-genetique.org](http://www.assises-genetique.org)

COMMUNICATIONS ORALES  
SÉLECTIONNÉES

COMPLIANT APPROVED BY



Infos générales & inscriptions: [mary.abbas@mcocongres.com](mailto:mary.abbas@mcocongres.com)  
Infos sponsoring & partenariat: [natalie.ruxton@mcocongres.com](mailto:natalie.ruxton@mcocongres.com)



---

# COMMUNICATIONS ORALES SÉLECTIONNÉES

THERAPIE ET CONTREVERSE

---

**CO01 : Le traitement avec l'inhibiteur FGFR NVP - BGJ398 corrige toutes les anomalies du squelette des souris achondroplasies**

**Auteurs :**

Davide Komla-Ebri (1), Emilie Dambroise (1), Ina Kramer (2), Catherine Besnoit-Lasselain (1), Nabil Kaci (1), Patricia Busca (3), Florent Barbault (4), Diana Graus-Porta (2), Arnold Munnich (1), Michaela Kneissel (2), Federico Di Rocco (1), Martin Biosse-Duplan (1), Laurence Legeai-Mallet (1)

1. INSERM U1163, Institut Imagine, Université Paris Descartes, Paris, France
2. , Novartis Institutes for BioMedical Research, Bâle, Suisse
3. UMR CNRS 8601, Université Paris Descartes, Paris, France
4. UMR CNRS 7086, Université Paris Diderot, ITODYS, Paris, France

**Mots clefs :** achondroplasie, inhibiteur tyrosine kinase, thérapeutique, FGFR3, cartilage, os

**Résumé :**

L'achondroplasie (ACH) est la forme la plus fréquente de nanisme, la mutation Gly380Arg localisée dans le gène FGFR3 (Fibroblast Growth Factor Receptor 3) est responsable de cette chondrodysplasie. Cette mutation gain de fonction induit une phosphorylation importante du récepteur FGFR3 provoquant une activation de ses voies de signalisation ce qui induit une perturbation importante des mécanismes d'ossifications endochondrale et membranaire.

Mettre en place et identifier un traitement pour les patients atteints d'ACH est un projet qui a suscité beaucoup de travaux au cours de ces dernières années. Les stratégies thérapeutiques envisagées ont été diverses, pour exemple, l'utilisation de statine, de meclozine, du récepteur FGFR3 soluble ou bien d'un analogue du CNP. La seule approche thérapeutique aujourd'hui testée chez l'homme est celle du CNP ou vosoritide. Alors que la phase clinique II avec le vosoritide, réalisée dans une population pédiatrique d'ACH, montre des résultats encourageants, notre équipe a voulu tester une autre approche, utiliser de petites molécules inhibitrices du domaine tyrosine kinase (TKI) pour réduire la phosphorylation de FGFR3. Pour cette raison, nous avons réalisé des expériences avec l'inhibiteur pan-FGFR "NVP-BGJ398" dans nos modèles cellulaire et murin d'ACH.

Nous montrons *in vitro* en utilisant des chondrocytes humains ACH, que le NVP-BGJ398 réduit la phosphorylation de FGFR3 et inhibe la voie de signalisation des Mapkinases. Nous modifions également *ex vivo* la croissance anormale des fémurs et des calvariae d'embryons de souris (*Fgfr3*<sup>Y367C/+</sup>). Nous avons complété ces premières expériences avec des analyses *in vivo* dans un modèle murin mimant l'ACH (*Fgfr3*<sup>Y367C/+</sup>). Nous avons injecté le NVP-BGJ398 dès la naissance et nous montrons, pour la première fois, qu'une faible dose de NVP-BGJ398 (2 mg/kg), est capable de pénétrer dans la plaque de croissance des souris *Fgfr3*<sup>Y367C/+</sup> et de réduire la phosphorylation de la voie des Mapkinases. Les effets du NVP-BGJ398 sont visibles sur le squelette appendiculaire (fémur +21%, tibia +32%, humérus +12%, ulna +22%, radius +24%) et le squelette axial (L4-L6 +12%). Les analyses  $\mu$ CT montrent que le traitement au NVP-BGJ398 modifie la forme du foramen magnum et empêche la disparition des synchondroses. Nous observons également une modification de la taille des vertèbres et du disque intervertébral chez les souris traitées. En conclusion, le NVP-BGJ398 injecté aux souris ACH dès la naissance est capable de corriger l'ensemble des anomalies squelettiques de l'ACH. Nos résultats montrent pour la première fois que les inhibiteurs de tyrosine kinase pourraient être une approche thérapeutique pour les jeunes enfants atteints d'ACH.

**CO02 : Restauration de l'expression de collagène VII in vivo par saut d'exon dans un modèle d'Epidermolyse Bulleuse Dystrophique Récessive**

**Auteurs :**

Matthias Titeux (1), Sandrina Turczynski (1), Audrey Décha (2), Laure Tonasso (3), Alain Hovnanian (4)

1. Laboratoire des maladies génétiques cutanées, Inserm UMR 1163 - Institut Imagine - Université Paris Descartes Sorbonne Cité, Paris, France

2. , Université Paul Sabatier, toulouse, France

3. CNRS UMR 5288, Université Paul Sabatier, Toulouse, France

4. Laboratoire des maladies génétiques cutanées, Inserm UMR 1163 - Institut Imagine - Université Paris Descartes Sorbonne Cité - Département de Génétique, Hôpital Necker Enfants-Malades, Paris, France

**Mots clefs :** Epidermolyse bulleuse dystrophique, COL7A1, saut d'exon, épissage

**Résumé :**

Les épidermolyses bulleuses dystrophiques (EBD) sont dues à des mutations du gène *COL7A1* codant le collagène VII. Elles sont transmises selon un mode autosomique récessif (EBDR) ou dominant (EBDD) selon la nature et la position de la mutation. Les patients souffrent dès la naissance de décollements bulleux cutanés et muqueux souvent étendus et sévères. Le collagène VII s'assemble en fibres d'ancrage qui forment des structures essentielles pour l'adhésion entre le derme et l'épiderme. Il n'existe pas actuellement de traitement spécifique standardisé, mais différentes approches de thérapie génique et cellulaires sont à l'étude. Nous développons une approche innovante de thérapie génique par saut d'exon basée sur la capacité de petites molécules antisens à interférer avec la machinerie d'épissage lors de la maturation de l'ARN pré-messager en ARN messenger en induisant le saut du ou des exons ciblés porteurs de mutations récurrentes. Parmi les 118 exons de *COL7A1*, les exons 73, 74 et 80 sont particulièrement intéressants car ils portent un grand nombre de mutations récessives ou dominantes et leur excision préserve le cadre de lecture. Nous avons d'abord démontré *in vivo* que le collagène VII humain dépourvu des séquences codées par ces exons est fonctionnel dans un modèle de xéno greffe de peau EBDR reconstruite greffée sur des souris immunodéficientes. Puis nous avons choisi et transfecté des oligoribonucléotides antisens (OAS) ciblant des éléments clés de la régulation de l'épissage de ces exons et avons induit leur saut *in vitro* avec une grande efficacité (50% à 95%) dans des kératinocytes et de fibroblastes de patients EBDR porteurs de mutations dans les exons 73, 74 ou 80 à l'état homozygote ou hétérozygote. Les analyses par Western blot démontrent une réexpression significative de collagène VII (20%-30%). Enfin, nous avons injecté *in vivo* les OAS dans des peaux reconstruites produites avec des cellules de patients EBDR porteurs de mutations nulles hétérozygotes ou homozygote dans les exons 73 et 80 et avons démontré une réexpression de collagène VII à la jonction dermo-épidermique par immunohistofluorescence et la présence de fibre d'ancrage en microscopie électronique. La prochaine étape est la correction fonctionnelle *in vivo* par saut de l'exon 74 dans un modèle de souris knock-in généré au laboratoire. Cette approche ouvre la possibilité de traitements locaux et/ou systémiques non invasifs qui pourraient traiter les plaies des muqueuses, en particulier oesophagiennes et orales. La facilité de production en qualité clinique et d'administration des OAS facilitera le développement de cette approche. Environ 20% des patients EBDR présentent des mutations dans les exons 73, 74 ou 80, mais un grand nombre d'autres exons de *COL7A1* peuvent également être ciblés ce qui devrait augmenter la proportion de patient qui pourraient bénéficier de cette nouvelle approche non invasive.

**CO03 : Thérapie de la maladie de Fabry par molécule chaperon : résultats d'un essai clinique international multicentrique, randomisé en double aveugle contre placebo et son étude d'extension à 24 mois**

**Auteurs :**

Dominique P. Germain (1), Derralynn Hughes (2), Daniel Bichet (3), William Wilcox (4), Elfrida Benjamin (5), Jeff Castelli (5), Jay Barth (5), Raphaël Schiffman (6)

1. , Université de Versailles, Montigny, France
2. Hematology, Royal Free Hospital, Londres, Royaume Uni
3. Néphrologie, Hôpital du Sacré-Coeur, Montréal, Canada
4. Medical Genetics, Emory University School of Medicine, Atlanta, Etats-Unis
5. -, Amicus Therapeutics, Cranbury, Etats-Unis
6. Neurology, Baylor Research Institute, Dallas, Etats-Unis

**Mots clefs :** Médecine personnalisée, molécule chaperon, pharmacogénétique, essai clinique multicentrique de phase III

**Résumé :**

**Introduction :** La maladie de Fabry est une maladie génétique liée à l'X due à un déficit en  $\alpha$ -galactosidase lysosomale, entraînant une accumulation de globotriaosylceramide (Gb<sub>3</sub>) et le développement d'une affection multisystémique avec insuffisance rénale, cardiomyopathie et accidents cérébrovasculaires. Le migalastat est une molécule chaperon pouvant se lier à des formes mutantes conformationnelles spécifiques («*amenable*») de l' $\alpha$ -galactosidase afin de les stabiliser et accroître leur trafic vers les lysosomes pour une clairance du Gb<sub>3</sub> accumulé.

**Patients et méthodes :** Soixante sept patients furent inclus et tirés au sort pour une prise en double aveugle du migalastat ou d'un placebo pendant 6 mois, suivie d'une étude en ouvert avec le migalastat pendant 18 mois à l'issue d'un test *in vitro* (transfection de chaque mutation faux-sens en cellules HEK293 puis mesure de l'augmentation de l'activité  $\alpha$ -galactosidase après incubation pendant 72h avec le migalastat). La validation du test selon les bonnes pratiques de laboratoire, disponible seulement après le tirage au sort initial mais avant la levée de l'insu, montra que seuls 50 des 67 patients inclus présentaient des mutations authentiquement «*amenables*».

**Résultats :** L'analyse en intention de traiter (ITT, n=67) de l'objectif primaire de l'essai (clairance du Gb<sub>3</sub> des capillaires rénaux) montra une réduction de 41% chez les patients traités versus 28% chez les patients sous placebo ( $p=0,30$ ). L'analyse post-hoc à 6 mois des 50 patients avec mutations «*amenables*» montra une clairance des capillaires interstitiels rénaux significativement plus importante pour le migalastat que pour le placebo ( $p=0,008$ ) et une supériorité du migalastat versus placebo pour la clairance du lyso-Gb<sub>3</sub> plasmatique ( $p=0,0033$ ). Une réduction statistiquement significative fut observée à 12 mois chez les patients ayant switché à 6 mois du placebo vers le migalastat pour le Gb<sub>3</sub> des capillaires rénaux ( $p=0,014$ ) et le lyso-Gb<sub>3</sub> plasmatique ( $p < 0,0001$ ). Au bout de 24 mois, la pente annuelle de débit de filtration glomérulaire (eGFR<sub>CKD-EPI</sub>) demeura stable à  $-0,30 \pm 0,66$  mL/min/1,73m<sup>2</sup>/an. L'index de masse ventriculaire gauche regressa de  $-7,69$  g/m<sup>2</sup> (intervalle de confiance 95%:  $-15,4$ ,  $-0,009$ ;  $p < 0,05$ ). Une amélioration de symptômes gastro-intestinaux fût observée. La tolérance du migalastat fut bonne. Le migalastat n'eut aucun effet sur les substrats de la maladie (Gb<sub>3</sub> et lyso-Gb<sub>3</sub>) chez les patients porteurs de mutations «*non amenables*».

**Conclusion :** Le migalastat est le premier exemple de chaperon pharmacologique et d'une médecine personnalisée pour le traitement d'une maladie de surcharge lysosomale.

**CO04 : L'approche « genotype first » et partage international de données: Une approche efficace pour identifier de nouveaux gènes responsables d'anomalies du développement sans diagnostic**

**Auteurs :**

Laurence Faivre (1), Julien Thevenon (1), Paul Kuentz (2), Ange-Line Bruel (2), Thibaud Jouan (2), Charlotte Poe (2), Martin Chevarin (2), Daphné Lehalle (1), Alice Masurel (1), Nolwenn Jean-Marçais (1), Salima El Chehadeh (3), Christophe Philippe (4), Laetitia Lambert (5), Agathe Roubertie (6), Mathieu Milh (7), Aurélia Jacqueline (8), Cyril Mignot (8), Delphine Heron (8), David Geneviève (9), Bruno Delobel (10), Fabienne Prieur (11), Marion Gérard (12), Pierre Vabres (2), Yannis Duffourd (13), Jean-Baptiste Rivière (13), Christel Thauvin-Robinet (1)

1. Centre de Référence Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs de l'Interrégion Est, CHU Dijon, Dijon, France
2. Equipe GAD EA4271, Université de Bourgogne Franche Comté, Dijon, France
3. Centre de Référence Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs de l'Interrégion Est, CHRU Strasbourg, Strasbourg, France
4. Biologie Moléculaire, CHU Nancy, Nancy, France
5. Centre de Référence Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs de l'Interrégion Est, CHU Nancy, Nancy, France
6. Neurologie Pédiatrique, CHU Montpellier, Montpellier, France
7. INSERM UMR\_S 910, Université Aix Marseille, Marseille, France
8. Centre de Référence Déficience Intellectuelle, La Pitié Salpêtrière, APHP, Paris, France
9. Centre de Référence Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs, CHU Montpellier, Montpellier, France
10. Neurologie Pédiatrique, CHRU Lille, Lille, France
11. Centre de Référence Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs, CHU St Etienne, St-Etienne, France
12. Centre de Compétence Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs, CHU Caen, Caen, France
13. FHU TRANSLAD, CHU Dijon, Dijon, France

**Mots clefs :** séquençage de l'exome, partage de données, nouveaux gènes, corrélations génotype-phénotype

**Résumé :**

L'errance diagnostique est une réalité à laquelle est confrontée de nombreuses familles atteintes de maladies du développement. Outre la difficulté à assumer une pathologie sans nom, elle peut entraîner des limites dans les projets parentaux en l'absence de conseil génétique, des défauts de prise en charge, et des problématiques sociales. Afin de combattre cette errance diagnostique, la FHU TRANSLAD propose un séquençage de l'exome dans un contexte diagnostique chez les patients atteints de syndromes malformatifs avec ou sans déficience intellectuelle (DI) après ACPA négative, en l'absence de diagnostic clinique. En cas de négativité de variations candidates dans les gènes OMIM, les résultats sont exploités dans le cadre de l'équipe de recherche GAD dans le but d'identifier de nouveaux gènes responsables de maladies du développement, et où la co-existence de cliniciens et de biologistes permet de donner une importance majeure au phénotypage et aux corrélations génotype-phénotype. Parmi les nouveaux gènes candidats identifiés, 13 font à ce jour l'objet de publications ou collaborations. 3 d'entre eux ont été publiés ou en cours de publication sans avoir trouvé de 2<sup>ème</sup> famille, par des études fonctionnelles soutenant l'implication du gène identifié en rapport avec le phénotype dans une famille consanguine (*FIBP* dans une famille avec déficience intellectuelle (DI) syndromique ; *MAB21L1* avec agénésie scrotale syndromique ; *WDR91* avec syndrome polymalformatif léthal). Pour 2 d'entre eux, une collaboration nationale a permis de répliquer les résultats dans d'autres familles (*SLC13A5* et *AP3B2* dans des phénotypes d'encéphalopathies épileptiques). Enfin, pour 8 d'entre eux, c'est une collaboration internationale qui a permis de répliquer les résultats avec un nombre variable d'individus. Dans 4/8 cas, les résultats sont exploités par l'équipe (*KLHL7*, *MSL3*, *PACS2* et *STAG1* dans des DI syndromiques). Dans les 4/8 cas restants, les résultats sont exploités par une autre équipe internationale en collaboration (*NFIB* et *TAF1* dans des DI syndromiques ; *SCN10A* dans une encéphalopathie léthale ; *SLC25A24* dans un syndrome progéroïde néonatal). En parallèle, l'équipe fait un effort de partage de données pour les gènes où l'implication en pathologie humaine n'a été suggérée que dans une publication, dans un but de pouvoir conclure à un lien entre génotype et phénotype. Cela est le cas pour *SASH1* avec poïkilodermie syndromique AR ; *PUF60* dans le syndrome de Verheij ; *THOC6* dans le syndrome de Chandree-Beaulieu-Boycott ; *POGZ* dans une DI syndromique ; *DNM1L* avec encéphalopathie épileptique avec atrophie optique ; *GFER* avec encéphalomyopathie avec cataracte. Ces approches se révèlent très efficaces pour contribuer à l'identification de nouveaux gènes responsables de maladies du développement, et un effort collaboratif Français organisé devrait à l'avenir permettre un partage plus large et plus organisé des exomes négatifs ou avec des variants de signification inconnue.

**CO05 : Transfert du séquençage à haut débit des laboratoires de recherche à l'application pratique hospitalière : en quête d'un compromis éphémère**

**Auteurs :**

ARNOLD MUNNICH (1), SYLVAIN HANEIN (2), CHRISTINE BOLE (3), PATRICK NITSCHKE (4), CLAUDE BESMOND (4), STANISLAS LYONNET (4), VALERIE CORMIER-DAIRE (4), JEAN-PAUL BONNEFONT (1)

1. Service de Génétique, Hôpital Necker-EnfantsMalades, PARIS, France
2. Institut Imagine, , PARIS, France
3. Institut Imagine, Hôpital Necker-EnfantsMalades, P, France
4. Institut Imagine, Hôpital Necker-EnfantsMalades, PARIS, France

**Mots clefs :** éthique, NGS, société

**Résumé :**

Le transfert du séquençage à haut débit (NGS) de la recherche à l'application pratique soulève un quadruple défi. D'abord le **défi scientifique et technique** de résoudre l'hétérogénéité génétique. Le second défi est **éthique**, c'est de répondre aux seules questions diagnostiques posées et à nulle autre. Il faut se garder de sur-interpréter des résultats incertains, de révéler des résultats douteux, des découvertes fortuites et des variants de signification inconnue. Le troisième défi, **médico-réglementaire**, est de mettre les usagers en garde contre les mauvaises pratiques commerciales, les abus de confiance et les infractions à la législation française. Il faut adapter nos nouveaux outils aux bonnes pratiques de laboratoire. La puissance publique n'est pas exempte d'obligations : elle est assujettie à une obligation de moyens sinon de résultats. Il y a un préjudice sérieux à différer la mise en œuvre des tests à même d'identifier les causes connues et publiées de maladies. Il ne s'agit pas de recherches mais d'une obligation de soins opposable. Si rien n'est fait, les constitutions de parties civiles et les actions de classe ne tarderont pas. Le dernier défi, **médico-économique**, est de conduire le changement en préservant nos valeurs communes de solidarité. Pour relever ces quatre défis, l'institut *Imagine* a opté pour une stratégie de re-séquençage ciblé en panels organisés par entrées cliniques, en lien avec les équipes de recherches, le laboratoire hospitalier de génétique de l'hôpital Necker et les plateformes de l'Institut. Sont séquencés les gènes reconnus comme pertinents, rapportés mutés au moins deux fois, au terme d'un processus d'inclusion collégial suivi d'une restitution associant elle-aussi chercheurs, cliniciens et biologistes. Ainsi, 22 panels de re-séquençage ont été créés : déficiences intellectuelles, dysplasies squelettiques, ostéogénèse imparfaite, mitochondriopathies, épilepsies, surdités, malformations cérébrales, neurocristopathies, dystrophies rétinienne, anomalies du corps calleux, Alport, polykystoses hépato-rénales, génodermatoses, déficits immunitaires. Les contrôles positifs sont tous identifiés et l'efficacité diagnostique s'étale entre 20% et 85% selon la spécificité du signe d'appel et le degré d'hétérogénéité génétique. En l'absence de résultats positifs, de panels dédiés ou d'équipe de recherche intéressée, la plateforme de génomique translationnelle peut être saisie pour un exome sous réserve de cofinancement. Au total, 200 exomes ont été effectués par cette plateforme avec une efficacité diagnostique de 50% (pour moitié des mutations de gènes connus à présentation atypique) conduisant à la naissance de 15-20 enfants bien portants. Quoiqu'éphémères, les panels relèvent ces quatre défis. Ils sont évolutifs, révisables et ont vocation à être partagés avec d'autres centres de génétique français et étrangers dans l'esprit des Investissements d'Avenir.

**CO06 : Le séquençage du génome entier : prochain test central des laboratoires de génétique médicale ?**

**Auteurs :**

Damien SANLAVILLE (1), Nicolas CHATRON (2), Pierre-Antoine ROLLAT-FARNIER (2), Audrey LABALME (2), Flavie DIGUET (1), Claire BARDEL (3), Marianne TILL (2), Pascal ROY (4), Gaetan LESCA (1), Caroline SCHLUTH-BOLARD (1)

1. Laboratoire de Cytogénétique Constitutionnelle, Hospices Civils de Lyon, Equipe TIGER, CRNL, UCBL1, INSERM U1028, CNRS UMR 5292, Lyon, France
2. Laboratoire de Cytogénétique Constitutionnelle, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
3. Service de biostatistique, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
4. Service de Biostatistique, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

**Mots clefs :** WGS, NGS, WES, génome, panel, exome

**Résumé :**

**Le séquençage du génome entier : prochain test central des laboratoires de génétique médicale ?**

L'adoption rapide du séquençage à haut débit a révolutionné les pratiques de recherche et de diagnostic en génétique médicale. Alors que le *whole genome sequencing* (WGS) devient une réalité financière nous avons voulu estimer si cette technique pouvait se substituer aux techniques de cytogénétique et de biologie moléculaire actuellement en place dans notre laboratoire pour la détection de variants génomiques : CNV (*Copy Number Variations*), SNV (*Single Nucleotide Variations*) et SV (*Structural Variations*).

Nous avons réalisé le séquençage génome entier de deux patients, préalablement caractérisés en Analyse Chromosomique sur Puce à ADN (ACPA) et porteurs de remaniements chromosomiques complexes. L'analyse des données WGS a permis de retrouver les 10 CNVs connus et de révéler 4 CNVs additionnels non détectables en ACPA.

Concernant les SNVs, nous avons simulé des données WGS 30x en cumulant les données de deux patients. Nous avons ensuite étudiés les profondeurs de séquençage obtenues sur l'ensemble des gènes de deux panels réalisés en routine au laboratoire (déficience intellectuelle : 450 gènes ; épilepsie : 86 gènes) ainsi que sur l'exome. Quel que soit la cible étudiée, en WGS 30x 97,4% des bases sont couvertes par plus de 10 lectures, profondeur seuil utilisée pour l'appel de variants. Ces données de couverture sont inférieures à celles des deux panels dont les kits de capture ont été ajustés ( > 98% à 10x), mais sont comparable à l'exome testé au laboratoire (Clinical Research Exome, Agilent Technologies : 96.4% des bases couvertes à 10x). Il est important de noter que le WGS 30x offre une couverture satisfaisante sur plusieurs régions classiquement difficiles à « capturer » (ex : *SHANK3*) mais ne solutionne pas la question des régions codantes situées dans des régions dupliquées (ex : *CHRNA7*).

Parallèlement, un projet de caractérisation des points de cassure de remaniements chromosomiques apparemment équilibrés par WGS est en cours dans le laboratoire (projet ANI). Il nous permettra de connaître les performances de la technologie et les outils bioinformatiques à utiliser pour révéler les variants structuraux.

A l'avenir, et contrairement aux études de données de « panels », le très grand nombre de données générées pourrait être réanalysé avec l'avancée des connaissances sans coût technique additionnel et répondre à d'autres questions diagnostiques concernant les mêmes patients. Outre ses performances, l'absence d'étape obligatoire de capture et de PCR simplifie l'organisation du laboratoire et accélère le processus. La perspective d'un test unique mais encore coûteux, doit motiver les investissements dans les infrastructures nécessaires à l'analyse de très volumineuses données. Sur le plan éthique, l'expérience acquise lors des développements des technologies d'ACPA et d'exome bénéficiera au transfert du WGS en diagnostic.

---

# COMMUNICATIONS ORALES SÉLECTIONNÉES

CHROMOSOME, CHROMATINE ET SYNDROME MALFORMATIF

---

**CO07 : Etude de la conformation chromatinienne de cellules humaines : Identification d'éléments de régulation à distance du gène CFTR**

**Auteurs :**

Stéphanie MOISAN (1), Soizic BERLIVET (2), Chandran KA (1), Josée DOSTIE (2), Claude FEREC (1)  
1. Inserm U1078 Génétique, Génomique Fonctionnelle et Biotechnologies, CHRU de Brest, BREST, France  
2. Department of Biochemistry and Goodman Cancer Research Center, McGill University, Montréal, Canada

**Mots clefs :** CFTR, Mucoviscidose, organisation chromatinienne, expression génique, promoteur, enhancer, CTCF

**Résumé :**

Le gène *CFTR* (*Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator*) a été identifié en 1989. Vingt-cinq ans après, les mécanismes contrôlant sa fine expression, sont encore mal compris. Bien que plus de 2000 mutations aient été découvertes, il reste des patients pour qui le génotype n'a pas été établi. Les éléments de régulation, décrits au sein du promoteur, ne peuvent à eux seuls expliquer cette complexe régulation tissu-spécifique. Des éléments de régulation à distance, en cis ou en trans, sont certainement impliqués dans ce contrôle d'expression.

L'objectif de ce projet est de mieux décrypter les mécanismes de régulation à distance du gène *CFTR* en identifiant des séquences régulatrices éloignées, mais pouvant, par des mécanismes de repliement, interagir spécifiquement avec celui-ci.

Afin d'étudier ces contacts chromosomiques, nous avons, dans un premier temps, mis au point la technique de Capture de Conformation Chromosomique (3C). Suite à cette technique, nous sommes passés à une approche à plus grande échelle, la technique de Copie Conforme de 3C (5C), qui permet de mesurer des milliers d'interactions chromatinienne en une analyse.

L'organisation spatiale d'une région d'environ 790 kb recouvrant le gène *CFTR*, a été analysée dans des cultures primaires de cellules épithéliales nasales, exprimant le gène *CFTR* et des fibroblastes de peau, ne l'exprimant pas ou très peu. Les interactions entre les régions de ce locus et le promoteur *CFTR* ont été étudiées par séquençage nouvelle génération sur Ion PGM™. Nous avons comparé ces conformations chromatinienne afin d'identifier des éléments de régulation spécifiques d'une expression de *CFTR*.

Notre approche a été validée par l'identification de régions régulatrices précédemment décrites. De plus, nous avons mis en évidence de nouveaux contacts chromatinienne avec le promoteur *CFTR*. Nous avons démontré que deux des régions entrant spécifiquement en contact avec le promoteur *CFTR*, augmentaient significativement son expression. Nous suggérons que ces deux nouveaux enhancers, situés de part et d'autre du gène, se retrouvent à proximité du promoteur via la formation d'une boucle d'ADN initiée par le recrutement de facteurs CTCF.

Grâce à la technique 3C et ses variantes, l'identification de nouvelles mutations à distance du gène pourraient expliquer des dérégulations de son expression.

**CO08 : Nouveau mode de dysrégulation génique par rupture de domaines chromatiniens d'expression conduisant à une expression ectopique de gènes impliqués dans le développement des extrémités.**

**Auteurs :**

Brigitte GILBERT-DUSSARDIER (1), Frédéric BILAN (2), Radu HARBUZ (2), Alain KITZIS (2), Stefan MUNDLOS (3)

1. Génétique Médicale, , Poitiers, France

2. Génétique Médicale, CHU , Poitiers, France

3. Genetik, Max Planck Institute for Molecular Genetics, Berlin, Allemagne

**Mots clefs :** Brachydactylie, WNT6, IHH, EPHA4, PAX3, domaines chromatiniens d'expression

**Résumé :**

Des études du génome à grande échelle par des techniques de conformation chromosomique telles que Hi-C et 5C ont montré que le génome est divisé en grands domaines topologiquement associés, les TADs (Topologically Associated Domains) qui partagent le génome en grandes unités de régulation (Dixon et al., 2012; Nora et al., 2012). Chez une de nos patientes présentant une brachydactylie préaxiale sévère des 4 membres associée à une déviation latérale sévère des 2 gros orteils, l'ACPA a mis en évidence une microdélétion *de novo* du locus *WNT6/IHH/EPHA4/PAX3*, ces 4 gènes étant potentiellement impliqués dans le développement des extrémités. Cette observation a été rapprochée d'autres observations similaires de l'équipe de Stefan Mundlos (Berlin) : 2 autres cas de brachydactylie de même type que notre observation avec délétion, 2 cas de syndrome F (= syndrome acro-pectoral) avec duplication ou inversion et 2 cas de polydactylie avec duplication ou inversion. Des modèles murins présentant ces différents variants ont été générés par la technique Crispr/Cas9, qui permet de reproduire ce type de remaniement. Les souris ainsi générées présentaient un phénotype comparable à celui des patients. Sur les tissus des membres de ces souris et les fibroblastes des patients, l'étude de conformation chromatinienne et des interactions géniques par 4C-seq a montré que les modifications de structure chromosomique induisaient des interactions anormales entre les promoteurs de ces différents gènes et des séquences d'ADN non codant, par rupture des « verrous » séparant les TADs : un cluster d'enhancers, normalement associé à *EPHA4*, stimule une expression ectopique de *WNT6*, *IHH* ou *PAX3*, selon le remaniement en cause.

**CO09 : Disséquer les remaniements chromosomiques avec le séquençage haut-débit : résultats préliminaires du projet ANI.**

**Auteurs :**

Caroline Schluth-Bolard (1), Linda Pons (1), Florence Amblard (2), Joris Andrieux (3), Marc-Antoine Belaud-Rotureau (4), Brigitte Benzacken (5), Patrick Callier (6), Marie-Pierre Cordier (7), Bénédicte Demeer (8), Françoise Devillard (2), Flavie Diguët (1), Jean-Michel Dupont (9), Brigitte Gilbert-Dussardier (10), Bertrand Isidor (11), Sylvie Jaillard (4), Eric Jeandidier (12), Boris Keren (13), Valérie Kremer (14), Cédric Le Caignec (15), Gaétan Lesca (16), James Lespinasse (17), Alice Masurel-Paulet (18), Anne Moncla (19), Gwenaël Nadeau (20), Céline Pébrel-Richard (21), Fabienne Prieur (22), Jacques Puechberty (23), Pierre-Antoine Rollat-Farnier (24), Isabelle Rouvet (25), Véronique Satre (2), Jean-Pierre Siffroi (26), Anne-Claude Tabet (27), Marianne Till (28), Renaud Touraine (22), Michel Vekemans (29), Patrick Edery (7), Damien Sanlaville (1)

1. Service de Génétique, Laboratoire de Cytogénétique Constitutionnelle, CBPE, Hospices Civils de Lyon, Centre de Recherche en Neurosciences de Lyon, INSERM U1028 ; CNRS UMR5292 ; UCBL1 ; TIGER Team , Bron, France
2. Laboratoire de Génétique Chromosomique, Hôpital Couple Enfant, CHU Grenoble, Grenoble, France
3. Institut de Génétique Médicale, Hôpital Jeanne de Flandre, CHRU Lille, Lille, France
4. Laboratoire de Cytogénétique et de Biologie Cellulaire, CHU Pontchaillou, Rennes, France
5. Laboratoire de Cytogénétique, Hôpital Jean Verdier, Bondy, France
6. Laboratoire de Cytogénétique, CHU Dijon, Dijon, France
7. Service de Génétique, Hôpital Femme Mère Enfant, Hospices Civils de Lyon, Bron, France
8. Centre d'activité de génétique clinique, Pôle pédiatrie, Hôpital Nord, CHU Amiens, Amiens, France
9. Laboratoire de Cytogénétique Constitutionnelle, Hôpital Cochin, Paris, France
10. Génétique Médicale, CHU La Milétrie, Poitiers, France
11. Service de génétique médicale, Unité de Génétique Clinique, CHU Nantes, Nantes, France
12. Service de Génétique , Hôpital Emile Muller, Mulhouse, France
13. Département de Génétique, GH Pitié-Salpêtrière, Paris, France
14. Laboratoire de Cytogénétique, Hôpital de Hautepierre, CHU Strasbourg, Strasbourg, France
15. Service de génétique médicale, Institut de biologie , CHU Nantes, Nantes, France
16. Service de Génétique, Hôpital Femme Mère Enfant, Hospices Civils de Lyon, Centre de Recherche en Neurosciences de Lyon, INSERM U1028 ; CNRS UMR5292 ; UCBL1 ; TIGER Team , Bron, France
17. Laboratoire de Génétique chromosomique, CH Général, Chambéry, Chambéry, France
18. Centre de référence anomalies du développement et syndromes malformatifs, CHU de Dijon, Dijon, France
19. Laboratoire de Cytogénétique, Hôpital de la Timone, CHU de Marseille, Marseille, France
20. Service de Cytogénétique, CH Valence, Valence, France
21. Service de Cytogénétique Médicale, CHU Estaing, Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, France
22. Service de Génétique Clinique, Chromosomique et Moléculaire, CHU Hôpital Nord, Saint-Etienne, France
23. Service de génétique, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
24. Service de Génétique, Laboratoire de Cytogénétique Constitutionnelle, Centre de Biologie et de Pathologie Est, Hospices Civils de Lyon, Bron, France
25. Centre de Biotechnologies Cellulaires, Hospices Civils de Lyon, Bron, France
26. Service de Génétique et Embryologie Médicales, Hôpital d'Enfants Armand Trousseau, Paris, France
27. Laboratoire de Cytogénétique, Hôpital Robert Debré, Paris, France
28. Service de Génétique, Laboratoire de Cytogénétique Constitutionnelle, Hospices Civils de Lyon, Bron, France
29. Service de Cytogénétique, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France

**Mots clefs :** remaniement chromosomique, NGS, effet de position, interruption de gène

**Résumé :** Les remaniements chromosomiques apparemment équilibrés (RCAE) associés à une déficience intellectuelle et/ou des malformations congénitales (DI/MC) sont des événements rares mais qui posent des difficultés pour le conseil génétique. Le phénotype peut être secondaire soit à un déséquilibre cryptique pouvant être mis en évidence par analyse chromosomique sur puce à ADN (ACPA), soit à l'interruption d'un gène au niveau du point de cassure, soit à un effet de position. Cependant, la caractérisation des points de cassure par les méthodes conventionnelles est longue et coûteuse et n'est pas réalisée en routine. Le séquençage haut-débit (NGS) est récemment apparu comme une méthode rapide et efficace pour caractériser les points de cassure des RCAE. Le projet ANI a pour objectif d'étudier 55 patients atteints de DI/MC et porteurs d'un RCAE par NGS afin d'identifier des gènes responsables d'anomalies du développement et de déficience intellectuelle. Il permettra également de mieux comprendre les mécanismes et les conséquences fonctionnelles des RCAE.

Au 1<sup>er</sup> octobre 2015, 16 patients ont été inclus dans le projet ANI : 10 translocations réciproques, 1 inversion, 3 remaniements chromosomiques complexes (RCC) et 2 insertions. Neuf patients ont été analysés par NGS et les points de cassure ont été caractérisés pour cinq d'entre eux. Les remaniements sont souvent plus complexes qu'attendus, puisque le NGS a identifié deux fois plus de points de cassure que le caryotype (28 vs 14), avec un remaniement correspondant à un chromothripsis constitutionnel. Il a également été mis en évidence 3 délétions cryptiques de quelques kb. Dix gènes sont interrompus par les points de cassure, dont deux ont permis de poser un diagnostic, le gène *KANSL1* (syndrome de Koolen-DeVries) et le gène *FOXP1* (déficience intellectuelle, retard de langage). Pour 4 patients, la localisation des points de cassure n'a pas pu être déterminée car ils intéressent des séquences d'hétérochromatine, qui sont mal représentées dans le génome de référence. Une stratégie d'analyse alternative est en cours de développement pour pallier cette limite du NGS. Enfin, des études d'expression permettront d'évaluer l'impact fonctionnel de ces RCAE sur les gènes à proximité, dans le cadre d'un effet de position.

En conclusion, ce projet offre une opportunité unique pour comprendre la mécanique, les conséquences fonctionnelles et pathologiques des RCAE, pour identifier de nouveaux gènes responsables de déficience intellectuelle et pour élaborer un nouvel outil diagnostique. Nous l'illustrerons par quelques exemples.

**CO10 : Caractérisation d'une mutation hétérozygote de novo dans le gène ADGRL2 à l'origine d'un retard de croissance avec rhombencéphalosynapsis et microlissencéphalie**

**Auteurs :**

Myriam Vezain (1), Matthieu Lecuyer (2), Annie Laquerrière (3), Valérie Dupé (4), Laurent Pasquier (5), Leslie Ratié (4), Véronique David (4), Sylvie Odent (6), Thierry Frébourg (7), Bruno Gonzalez (2), Pascale Saugier-veber (7)  
1. Inserm U1079 et Service de Génétique, Centre Normand de Génomique Médicale et Médecine Personnalisée, Inserm, IRIB, Université de Normandie, Rouen, France  
2. Region-Inserm NeoVasc ERI28, Inserm, IRIB, Université de Normandie, Rouen, France  
3. Laboratoire d'Anatomie Pathologique et Region-Inserm NeoVasc ERI28,, Inserm, Université de Rouen et CHU de Rouen, Rouen, France  
4. UMR6290 CNRS IGDR, , Université de Rennes1, Faculté de Médecine, Rennes, France  
5. Service de Génétique Clinique,, CHU Rennes, Rennes, France  
6. Service de Génétique Clinique et UMR6290 CNRS IGDR,, CHU Rennes et Université de Rennes1, Faculté de Médecine, Rennes, France  
7. Inserm U1079 et Service de Génétique, Centre Normand de Génomique Médicale et Médecine Personnalisée, Inserm, Université de Rouen et CHU de Rouen, Rouen, France

**Mots clefs :** rhombencéphalosynapsis, microlissencéphalie, séquençage d'exome en trio

**Résumé :**

Le rhombencéphalosynapsis (RS) est une malformation rare du cervelet caractérisée par l'association d'une agénésie complète ou partielle du vermis avec fusion des hémisphères cérébelleux. Le RS est fréquemment associé à d'autres malformations cérébrales et parfois à des anomalies extra-cérébrales. Nous rapportons l'identification par séquençage d'exome en trio d'une mutation hétérozygote *de novo* dans le gène *ADGRL2* (*Adhesion G protein-coupled Receptor L2*) chez un fœtus présentant un RS et une microlissencéphalie dans un contexte de retard de croissance important. Morphologiquement, il existait une déplétion neuronale, notamment des interneurons GABAergiques dans les cortex hémisphériques et cérébelleux, ainsi qu'au niveau des noyaux gris centraux et du tronc cérébral. Le gène *ADGRL2* code pour la latrophiline 2, un récepteur couplé aux protéines G (GPCR) appartenant à la famille des GPCR d'adhésion et dont un ligand connu est une neurotoxine, l'a-latrotoxine. Nous avons démontré le caractère délétère de cette mutation faux-sens à l'aide de tests fonctionnels : nous avons mis en évidence, par technique de microfluorimétrie, une altération de la libération de calcium intracellulaire en réponse à la fixation de l'a-latrotoxine, à la fois dans les cellules amniotiques du patient comparées à des cellules amniotiques contrôles de même terme et dans des cellules HeLa transfectées avec la version mutée du gène *ADGRL2*. Le traitement par un inhibiteur spécifique de la phospholipase C des cellules HeLa qui expriment l'allèle sauvage du gène *ADGRL2* conduit à un profil de libération calcique comparable au profil des cellules HeLa exprimant l'allèle muté. Ainsi, l'activation de la protéine ADGRL2 par fixation de son ligand est responsable d'un signal de transduction médié par les protéines G et la mutation faux-sens altère cette voie. Au moyen de tests d'adhésion et d'agrégation cellulaires, nous avons montré que ce défaut de libération de calcium intracellulaire induit un excès d'agrégation et d'adhésion cellulaire conduisant à une réduction de la migration cellulaire. Dans le modèle knock-out murin, nous observons une létalité *in utero* à E15.5 une hypotrophie ainsi qu'un défaut de croissance cérébrale chez les souriceaux homozygotes. Chez les fœtus *Adgrl2*<sup>-/-</sup>, le marquage de la caspase 3 clivée (cas3) montre une activité apoptotique accrue au niveau des zones germinatives télencéphalo-diencephaliques et cérébelleuses. Enfin, le co-marquage cas3/NKX2.1 a permis de démontrer que cette mort neuronale affectait les interneurons GABAergiques immatures. L'ensemble de ces résultats suggère que la mutation du gène *ADGRL2* est responsable d'un excès d'adhésion cellulaire, d'un défaut de migration neuronale et d'un excès d'apoptose des interneurons GABAergiques à l'origine du RS et de la microlissencéphalie.

**CO11 : Les anomalies du corps calleux observées chez la souris déficiente en Kif7 sont dépendantes d'une dérégulation des niveaux d'expression de Gli3R et de Fgfr8**

**Auteurs :**

Audrey Putoux (1), Dominique Baas (2), Marie Paschaki (2), Tania Attié-Bitach (3), Laurette Morlé (2), Patrick Edery (1), Sophie Thomas (4), Bénédicte Durand (2)

1. Service de Génétique et Centre de Recherche en Neurosciences de Lyon, INSERM U1028, CNRS UMR 5292, équipe GENDEV, Hospices Civils de Lyon et Université Claude-Bernard Lyon 1, Lyon - Bron, France
2. Centre de Génétique et de Physiologie Moléculaire et Cellulaire, UMR CNRS 5534, Université Lyon 1, Villeurbanne, France
3. Département de Génétique et INSERM U1163, Laboratoire d'Embryologie et de Génétique des Malformations Congénitales, Hôpital Necker - Enfants Malades, Assistance Publique - Hôpitaux de Paris, Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité et Institut Imagine, Paris, France
4. INSERM U1163, Laboratoire d'Embryologie et de Génétique des Malformations Congénitales, Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité et Institut Imagine, Paris, France

**Mots clefs :** ciliopathie, syndrome acro-calleux, KIF7, formation du corps calleux, voie Sonic hedgehog, Gli3, Fgfr8

**Résumé :**

Le corps calleux est la principale commissure cérébrale. Il est constitué de fibres de substance blanche qui permettent la connexion des régions fonctionnelles homotopiques des deux hémisphères. Sa formation est complexe et nécessite plusieurs étapes, dont la spécification de la ligne médiane, la formation des hémisphères télencéphaliques, la naissance et la spécification des neurones commissuraux et le guidage des axones commissuraux qui vont traverser la ligne médiane puis atteindre leur cible finale dans l'hémisphère controlatéral. Les mécanismes pouvant conduire à une agénésie du corps calleux sont donc multiples. Cette malformation fait partie du spectre phénotypique de plusieurs pathologies associées au cil primaire ayant en commun une altération de la voie Sonic hedgehog (SHH), en particulier le syndrome acro-calleux (ACLS, OMIM 200990). Ce syndrome est caractérisé par l'association d'un retard de développement psychomoteur, d'une agénésie ou d'une hypoplasie du corps calleux, d'une polydactylie généralement pré-axiale aux membres inférieurs et post-axiale aux membres supérieurs et d'une dysmorphie faciale évocatrice. L'ACLS est lié à des mutations du gène *KIF7*. La protéine KIF7 joue un rôle central au sein de la voie SHH en permettant le maintien de l'équilibre entre les formes répressive (GLI3R) et activatrice (GLI3A) de la protéine GLI3, facteur de transcription majeur de cette voie. Les mutations de *KIF7* entraînent une baisse de GLI3R et une surexpression des gènes cibles de la voie SHH.

Afin d'avancer dans la compréhension du rôle de KIF7 et de la voie SHH dans la genèse des anomalies du corps calleux observées dans les ciliopathies, nous avons étudié un modèle murin invalidé pour *Kif7*. Nous avons montré que les souris *Kif7*<sup>-/-</sup> présentent des anomalies majeures du développement cérébral, au premier rang desquelles une agénésie complète du corps calleux. Cette agénésie est liée à des altérations sévères des populations cellulaires de guidage des axones calleux et n'est pas retrouvée chez les souris *Kif7*<sup>-/-</sup> lorsque l'on augmente le taux de Gli3R chez ces dernières. Ces résultats montrent que les anomalies calleuses observées chez les mutants *Kif7*<sup>-/-</sup> sont secondaires à la diminution de Gli3R chez ces mutants. De plus, la délétion d'un seul allèle de *Fgfr8*, facteur jouant un rôle fondamental dans l'organisation des cellules de guidage des fibres calleuses au niveau de la ligne médiane, est suffisante pour restaurer le phénotype cérébral normal chez les souris *Kif7*<sup>-/-</sup>.

Ce travail permet de conclure que l'intégrité de *Kif7* est nécessaire à la formation correcte du corps calleux en raison de son action sur le maintien de Gli3R, qui va à son tour contrôler les niveaux d'expression de *Fgfr8*. L'ensemble de ces données permet d'avancer dans la compréhension des mécanismes à l'origine de l'agénésie du corps calleux observée dans les pathologies liées à une dérégulation de la voie SHH.

**CO12 : Suivi prénatal des femmes enceintes ayant donné naissance à un enfant atteint de trisomie 21 : résultats de l'enquête nationale ACLF – Agence de la Biomédecine**

**Auteurs :**

Jean-Michel DUPONT (1), Brigitte SIMON-BOUY (2), Audrey ZEBINA (3), Dominique ROYERE (3), GFCC GROUPE FRANCAIS DE CYTOGENETIQUE CONSTITUTIONNELLE (4), Fabienne PESSIONE (3)

1. Service de Cytogénétique Constitutionnelle Pré et Postnatale, HUPC - Site Cochin, PARIS, France

2. Génétique Constitutionnelle, Centre Hospitalier de Versailles, VERSAILLES, France

3. Agence de la Biomédecine, SAINT DENIS LA PLAINE, France 4. Array, Array, Array, France

**Mots clefs :** Trisomie 21; dépistage; Marqueurs sériques; DPNI

**Résumé :**

But

Evaluer le parcours obstétrical des femmes qui ont donné naissance à un enfant atteint de trisomie 21 (T21) afin de connaître l'évolution de la fréquence des dépistages négatifs en fonction du type de test utilisé.

Méthodes

Nous avons réalisé une enquête auprès de tous les laboratoires de cytogénétique français pour documenter le parcours prénatal des mères vis-à-vis du dépistage de la T21 pour tous les enfants de moins de un an nés en France entre 2010 et 2012 avec un diagnostic postnatal de T21.

Résultats

Sur cette période 1253 diagnostics de trisomie 21 ont été réalisés après la naissance (les cas identifiés lors d'un diagnostic prénatal ont été exclus de l'enquête). Nous avons retrouvé le parcours prénatal pour 73% des mères, et montré que dans cette population 75% des femmes ont eu recours à un dépistage de la trisomie 21 quel qu'en soit le mode. Dans 68% de ces cas, le dépistage s'est révélé négatif.

Pour la première fois, en combinant les données des rapports annuels de l'Agence de la Biomédecine sur les résultats du diagnostic prénatal avec nos résultats, nous sommes en mesure d'évaluer au plus près et de présenter le taux de détection de la trisomie 21 par les différentes stratégies de dépistage en vigueur.

Conclusion

Les objectifs de santé publique visant à réduire le nombre de prélèvements invasifs sans altérer les performances globales du dépistage ont été atteints. La connaissance des niveaux de risque calculés parmi les femmes porteuses d'un enfant atteint devrait permettre des simulations quant à l'impact de l'introduction de l'analyse de l'ADN foetal circulant dans la stratégie globale de dépistage.

---

# COMMUNICATIONS ORALES SÉLECTIONNÉES

NEUROGNETIQUE ET ONCOGENETIQUE

---

**CO13 : Recyclage anormal du récepteur à la transferrine : un mécanisme physiopathologique commun à différentes formes de neurodégénérescences avec accumulation de fer dans le cerveau.**

**Auteurs :**

Anthony DRECOURT (1), Michael DUSSIOT (2), Meriem Garfa-Traoré (3), Florence HABAROU (4), Nicolas GOUDIN (3), Julie Mery-Tahraoui (1), Metodi METODIEV (1), Joël Babdor (2), Valerie Serre (5), Christine Bole-Feysot (6), Patrick Nitschké (7), Chris Ottolenghi (4), Isabelle DESGUERRE (8), Nathalie Boddaert (9), Olivier Hermine (2), Arnold MUNNICH (10), Agnès ROTIG (1)

1. U1163 Equipe Agnès ROTIG Genetique et epigenetique des maladies mitochondriales, Institut IMAGINE, Inserm U1163 Hopital Necker enfants malades, PARIS, France
2. U1163 Equipe Olivier HERMINE Laboratory of molecular mechanisms of hematologic disorders and therapeutic implications, Institut IMAGINE, Inserm U1163 Hopital Necker enfants malades, PARIS, France
3. IMAGINE SFR Cell Imaging Platform, Institut IMAGINE, Inserm U1163 Hopital Necker enfants malades, PARIS, France
4. Service de Biochimie métabolomique et protéomique., Hopital Necker enfants malades, PARIS, France
5. Mitochondries, métaux et stress oxydatif, UMR7592 Institut Jacques Monod, PARIS, France
6. IMAGINE Genomic platform, Institut IMAGINE, Inserm U1163 Hopital Necker enfants malades, PARIS, France
7. IMAGINE Bioinformatics platform, Institut IMAGINE, Inserm U1163 Hopital Necker enfants malades, PARIS, France
8. Maladies Métaboliques pédiatriques, service de neurologie, Hopital Necker enfants malades, PARIS, France
9. Service de Radiologie pédiatrique, Hopital Necker enfants malades, PARIS, France
10. Service de Genetique, Institut IMAGINE, Inserm U1163 Hopital Necker enfants malades, PARIS, France

**Mots clefs :** neurodégénérescence, fer, genetique, NBIA, CoA, Transferrine,

**Résumé :**

Les neurodégénérescences avec accumulation de fer dans le cerveau (Neurodegeneration with Brain Iron Accumulation, NBIA) englobent un ensemble de maladies neurodégénératives rares transmises sur un mode autosomique récessif ou lié à l'X. À ce jour, des mutations des gènes *PANK2*, *PLA2G6*, *COASY*, *FA2H*, *ATP13A2*, *C2orf37*, *WDR45*, *C19orf12*, *CP* et *FTL* ont été associées aux NBIA. *FTL* et *CP* codent respectivement pour une sous-unité de la ferritine et la céruloplasmine, deux protéines impliquées dans l'homéostasie du fer. *PANK2*, *PLA2G6*, *COASY* et *FA2H*, sont impliqués dans la synthèse du Coenzyme A, l'oxydation des acides gras ou les modifications des phospholipides et le lien entre ces gènes et l'accumulation de fer reste totalement inconnu. Enfin, de nombreuses formes de NBIA sont encore sans cause génétique.

Nous avons réalisé un séquençage exome dans deux familles indépendantes et avons identifié des mutations dans deux gènes différents, *REPS1* et *CRAT*. *REPS1* partenaire de Rab11 est impliquée dans le recyclage du récepteur à la transferrine (TfR1) et *CRAT*, une carnitine acetyltransferase, est une enzyme de la voie de synthèse du Coenzyme A. Afin de comprendre comment ces mutations conduisent à une accumulation de fer nous avons étudié les protéines de l'homéostasie du fer dans les fibroblastes des patients *REPS1* et *CRAT* et observé une augmentation majeure de la ferritine, de l'Iron Responsive Protein 1 (IRP1) et du récepteur à la transferrine (TfR1) suggérant une dérégulation du contrôle de l'entrée du fer dans les cellules et son accumulation intracellulaire. De façon surprenante cette même dérégulation du contrôle de l'homéostasie du fer a également été observée dans les fibroblastes de patients mutés dans les gènes *PANK2*, *PLA2G6* et *C19orf12* suggérant un mécanisme physiopathologique commun à toutes les NBIA.

Par une approche de cytométrie en flux en images (Imagestream, Amnis) qui combine la cytométrie et la microscopie confocale nous avons montré une accumulation de TFR1 à la surface de tous ces fibroblastes. D'autre part, le recyclage de la transferrine (Tf) suivi en microscopie confocale immunofluorescente a constamment montré un défaut de recyclage avec une accumulation peri-nucleaire de Tf dans les fibroblastes mutés pour *REPS1*, *CRAT*, *PANK2*, *PLA2G6* et *C19orf12*. Nous avons également identifié le compartiment endosomique dans lequel a lieu cette accumulation.

**Nos travaux confirment l'hétérogénéité génétique des NBIA avec l'identification de deux nouveaux gènes *REPS1* et *CRAT*. D'autre part, ils ont permis d'établir que l'accumulation en fer est liée à un défaut de recyclage du récepteur à la transferrine. C'est la première démonstration d'un lien entre NBIA et anomalie de recyclage du TfR1.** La poursuite de ce travail devrait aider à comprendre comment des défauts de synthèse du CoA, des acides gras ou des phospholipides impactent le recyclage du TfR1 et induisent une accumulation en fer.

**CO14 : La caractérisation moléculaire d'une cohorte de 402 patients illustre l'hétérogénéité génétique des encéphalopathies épileptiques précoces.**

**Auteurs :**

Mathieu MILH (1), Caroline LACOSTE (2), Pierre CACCIAGLI (2), Cécile MIGNON-RAVIX (3), Catherine BADENS (2), Laurent VILLARD (3)

1. Service de Neurologie Pédiatrique, Hôpital de La Timone, Marseille, France

2. Service de Génétique Médicale, Hôpital de La Timone, Marseille, France

3. Génétique Médicale et Génomique Fonctionnelle, UMR-S 910, Inserm, Aix Marseille Université, Marseille, France

**Mots clefs :** épilepsie, encéphalopathies épileptiques précoces

**Résumé :**

Dans le cadre du diagnostic et de la recherche sur les encéphalopathies épileptiques précoces, nous avons constitué une cohorte de 402 patients. Tous ces patients ont présenté des crises d'épilepsie associées à un tracé d'EEG anormal avant l'âge de 3 mois, mais aucune anomalie du bilan métabolique ni de l'imagerie cérébrale n'ont été observées. Tous ces patients présentent également un retard de développement. Une anomalie moléculaire a pu être identifiée chez 90 patients de cette cohorte, soit 22.4% de diagnostic moléculaire posé. Concernant les patients entrant dans le cadre du diagnostic (237 patients), nous avons étudié les gènes STXBP1 et KCNQ2 : 35 mutations ont été identifiées dans KCNQ2 (14.8 %) et 22 mutations dans STXBP1 (9.3%). Toutes ces mutations sont *de novo* exceptées deux, héritées d'un parent porteur de la mutation en mosaïque. Concernant les patients entrant dans le cadre de la recherche (165 patients), plusieurs gènes ont été criblés et nous avons identifiés des mutations dans les gènes ALG13, ALGT11, ARX, CDKL5, GABRG2, GRIN1, GRIN2A, KCNQ3, KCNT1, SCN2A, SCN8A, SLC13A5, TBC1D24. La CGH array haute résolution a par ailleurs permis de mettre en évidence de nombreux réarrangements, hérités de parents sains, mais absents des bases de données génomiques. Plusieurs réarrangements pathogènes ont été retrouvés proches des gènes STXBP1, MEF2C, WDR45, SCN2A ou WWOX. L'ensemble de ces résultats sera détaillé lors des Assises.

**CO15 : Agénésies du corps calleux: intérêt des approches de séquençage haut-débit pour l'identification des gènes en cause et la prédiction du pronostic cognitif**

**Auteurs :**

Christel Depienne (1), Caroline Nava (2), Agnès Rastetter (2), Solveig Heide (3), Cyril Mignot (3), Boris Keren (4), Fabien Lesne (3), Anne Faudet (3), Lucile Boutaud (5), Caroline Alby (5), Christine Bole (5), Patrick Nitchké (5), Thierry Billette de Villemeur (6), Marie-Laure Moutard (6), Tania Attié-Bitach (5), Delphine Héron (3)

1. Service de cytogénétique, Hôpitaux universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France

2. ICM, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France

3. service de génétique clinique, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France

4. UF de génomique du développement, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France

5. Institut Imagine, Hôpital Necker, Paris, France

6. Service de neuropédiatrie, Hôpital Trousseau, Paris, France

**Mots clefs :** agénésie du corps calleux, malformation cérébrale, déficience intellectuelle, hétérogénéité génétique, mutation, pronostic, anténatal

**Résumé :**

Le corps calleux (CC) est la principale commissure connectant les deux hémisphères cérébraux. L'agénésie du corps calleux (ACC) correspond à une absence complète ou partielle du corps calleux survenant lors du développement cérébral. Elle est la malformation cérébrale la plus fréquente, avec une incidence de un nouveau-né sur 4000. Dans les pays développés, l'ACC est habituellement diagnostiquée au cours de la période anténatale durant l'échographie du second trimestre. Les foetus avec ACC et d'autres malformations (ACC complexes) ont un pronostic défavorable, avec un risque très élevé de déficience intellectuelle (DI) ou d'épilepsie ultérieure. A l'inverse, les foetus avec une ACC isolée ont un pronostic incertain : dans 70% des cas environ, les enfants avec ACC isolée évoluent favorablement et ont un développement cognitif normal ou subnormal, tandis que les 30% restant évoluent vers une DI de sévérité variable. Le conseil génétique dans la situation d'ACC isolée se base actuellement sur ces statistiques et représente donc une situation critique pour le couple en l'absence de marqueur génétique permettant de différencier ces deux situations. Depuis 2009, notre équipe a rassemblé une cohorte de 150 patients avec ACC et DI, ainsi que plusieurs familles avec ACC isolée et intellect normal. L'objectif de cette étude était double : 1) Déterminer la fréquence des mutations de gènes connus chez les individus avec ACC et DI ; dans ce but, nous avons séquençé 423 gènes précédemment associés à des malformations du CC chez l'homme ou la souris (callosome). 2) Identifier de nouveaux gènes responsables d'ACC associée à une DI ou d'ACC isolée ; nous avons utilisé à cette fin le séquençage de l'exome dans des familles sélectionnées. Une mutation pathogène a été identifiée chez 16% des patients analysés par callosome. Les gènes en cause incluent *ARID1B* (9% des cas), *ARX*, *MED12*, *FOXP1*, *SPTAN1*, *TUBA1A*, et *ZBTB18*. L'analyse d'exome, réalisée en solo (cas index seul), trio (cas index sporadique et parents) ou quatuor (paires de germains et parents) pour 10 cas index avec ACC et DI et 3 familles avec ACC isolée dominante, a permis d'identifier une cause probable ou possible dans 3/10 cas (30%) et de proposer des nouveaux gènes candidats dans les autres familles. Ce travail montre l'importance d'identifier les multiples causes génétiques responsables d'ACC afin de pouvoir proposer un conseil génétique approprié aux couples lors de la détection d'une ACC isolée en prénatal.

**CO15 : Spectre clinique et génétique des anomalies du corps calleux dans une cohorte fœtale**

**Auteurs :**

Caroline Alby (1), Lucile Boutaud (1), Valérie Malan (2), Linda Mouthon (1), Bettina Bessières (3), Maryse Bonniere (3), Amale Ichkou (3), Nadia Elkhartoufi (3), Kévin Piquand (1), Judite de Oliveira (4), Nadia Bahi-Buisson (5), Pascale Sonigo (6), Anne-Elodie Millischer (6), Yves Ville (7), Christine Bole (8), Patrick Nietschke (9), Arnold Munnich (10), Stanislas Lyonnet (10), Michel Vekemans (11), Sophie Thomas (1), Ferechte Encha-Razavi (3), Tania Attié-Bitach (11)

1. INSERM U1163, Institut Imagine, Paris, France
2. cytogénétique, Necker-Enfants Malades, Paris, France
3. Histologie-Embryologie-Cytogénétique, Necker-Enfants Malades, Paris, France
4. INSERM U1163, Necker-Enfants Malades, Paris, France
5. Neuropédiatrie et U1163, Necker-Enfants Malades et Institut Imagine, Paris, France
6. radiologie, Necker-Enfants Malades, Paris, France
7. Maternité, Necker-Enfants Malades, Paris, France
8. plateforme génomique, Institut Imagine, Paris, France
9. plateforme bioinformatique, Institut Imagine, Paris, France
10. Génétique et INSERM U1163, Necker-Enfants Malades et Institut Imagine, Paris, France
11. Histologie-Embryologie-Cytogénétique et INSERM U1163, Necker-Enfants Malades et Institut Imagine, Paris, France

**Mots clefs :** corps calleux-foetopathologie-développement-génétique-NGS-CGH array

**Résumé :**

Le corps calleux (CC) est la principale commissure inter hémisphérique permettant la communication entre les aires corticales homologues. Les anomalies/malformations du corps calleux (MCC) sont la première cause d'interruption médicale de grossesse (IMG) pour anomalies cérébrales en raison du pronostic neuro-développemental incertain qui dépend de la présence ou non de signes associés, et de la cause sous-jacente. Leurs causes en sont hétérogènes, exogènes, chromosomiques ou génétiques, mais restent le plus souvent inexplicables. Nous avons entrepris une étude clinique et génétique par CGH et séquençage haut débit (NGS) d'une cohorte de 138 fœtus avec MCC.

Depuis 2000, 138 fœtus avec MCC ont eu un examen neuropathologique dans notre centre et ont été classés sur des bases histo-embryologiques en quatre groupes : I/ agénésies complètes ou partielles par défaut de décussation des fibres calleuses (55); II/ hypoplasies, lorsque le corps calleux est complet mais trop fin ou trop court (30) ; III/ dysmorphies, en cas d'anomalies de forme (24); IV/ anomalies de développement cortical avec anomalie associée du ruban cortical ou de la substance blanche sous-jacente (29). Seuls 16/40 restent isolées après l'examen foetopathologique. A ce stade 21 diagnostics ont été réalisés et en majorité dans le groupe IV (12).

Une étude par CGH array a été réalisée en complément du caryotype permettant au total 22 diagnostics d'anomalies chromosomiques dont 7 qui n'auraient pu être réalisés par les techniques de caryotype standard. 10 sont du groupe II.

Pour les cas non résolus, nous avons entrepris une double approche de NGS par exome en trio (13 cas) ou à l'aide d'un panel ciblé dénommé callosome (64 cas). Le callosome cible 423 gènes impliqués dans la mise en place du corps calleux chez l'homme ou dans des modèles animaux, ainsi que des gènes candidats par leur fonction. Cette approche a permis 13 diagnostics supplémentaires dont 10 mutations survenues *de novo*. 8 MCC sont du groupe I, et 3 se présentaient comme des ACC isolées en anténatal. D'autres diagnostics sont en cours de validation. Cette étude a permis de pointer vers 7 nouveaux gènes candidats.

Ainsi, cette étude a établi 42% de diagnostics et des corrélations phénotypes/génotypes dans notre cohorte fœtale avec 1% de causes materno-fœtales, 16% de désordres génomiques, 15,5% de diagnostics cliniques confirmés et 9,5% de diagnostics supplémentaires par NGS, et définit le syndrome de Coffin-Siris comme la cause la plus fréquente de MCC. Elle illustre les notions de restriction phénotypique, de variabilité d'expression, de phénocopies, de phénotype extrêmes et d'hétérogénéité génétique et allélique.

Nos résultats ouvrent des perspectives en diagnostic et le démantèlement des causes génétiques des MCC permettra de mieux appréhender la formation normale et pathologique du CC.

**CO16 : Paysage mutationnel du syndrome de prédisposition aux cancers du sein et de l'ovaire à partir du séquençage à haut débit d'un panel de gènes chez 4175 cas index**

**Auteurs :**

Laurent Castéra (1), Sophie Krieger (2), Nicolas Goardon (1), Antoine Rousselin (1), Angéline Legros (1), Olivia Bruet (1), Céline Quesnelle (1), Olivier Letac (1), Florian Domin (1), Chankannira San (1), Baptiste Brault (1), Robin Fouillet (1), Caroline Abadie (3), Odile Béra (4), Pascaline Berthet (5), Agathe Ricou (1), Thierry Frébroug (6), Dominique Vaur (1)

1. Laboratoire de Biologie et de Génétique du Cancer, INSERM U1079, Centre Normand de Génomique Médicale et Médecine Personnalisée, CLCC Centre François Baclesse, Caen, France
2. Laboratoire de Biologie et de Génétique du Cancer, INSERM U1079, Centre Normand de Génomique Médicale et Médecine Personnalisée, CLCC Centre François Baclesse, Université de Caen Normandie, Caen, France
3. Département de Génétique, CLCC Eugène Marquis, Rennes, France
4. Département de Génétique, CHU, Fort de France, Martinique
5. Service d'oncogénétique, CLCC Centre François Baclesse, Caen, France
6. Unité de Génétique moléculaire, INSERM U1079, Centre Normand de Génomique Médicale et Médecine Personnalisée, CHU, Rouen, France

**Mots clefs :** Prédisposition, Cancer, NGS, Panel

**Résumé :**

Depuis 2012, le diagnostic moléculaire des prédispositions au cancer du sein et de l'ovaire est réalisé dans notre laboratoire par séquençage à haut débit (NGS) d'un panel de gènes impliqués ou suspectés de l'être dans cette prédisposition. Nous avons validé pour le diagnostic une stratégie de NGS basée sur la capture d'un panel de gènes, l'indexation et le « pooling » des ADNs avant enrichissement, l'automatisation de la préparation des bibliothèques et le séquençage sur plateforme Illumina (Miseq, NextSeq500). Les analyses bioinformatiques sont automatisées et prises en charge par le logiciel BAPT (Bioinformatics Analysis Pipeline and Toolkit) développé au laboratoire et sont basées sur l'utilisation des logiciels CASAVA, NextGene, CNVseq et Alamut-batch. Les résultats sont intégrés dans une base de données interfacée, CanDiD (Cancer Diagnostic Database). Nous avons analysé par NGS l'ADN de 4175 patients en utilisant 4 versions du panel de gènes, incluant de 21 à 33 gènes. Nous avons détecté une mutation prédite comme étant délétère dans 722 cas (17 %). La majorité de ces mutations (83%) ont été retrouvées dans les gènes *BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK2*, *PALB2*, *ATM*, *TP53*, *RAD51C*, *BRIP1*, *RINT1* avec des incidences respectives de 4,6%, 4%, 1,2%, 1,1%, 1%, 0,6%, 0,5%, 0,4%, 0,3%. Nous avons détecté 359 altérations délétères de *BRCA1* et *BRCA2*, dont 26 réarrangements de grande taille (RGT) ; 46 mutations ont été mises en évidence dans *PALB2* essentiellement dans des familles avec âge moyen au diagnostic de cancer du sein supérieur à 40 ans ; 21 mutations, dont 2 RGT, ont été retrouvées dans *RAD51C* plus préférentiellement dans des familles sein-ovaire et, dans ces familles, l'âge moyen au diagnostic de cancer de l'ovaire était de 61 ans *versus* 53 dans les familles avec mutation *BRCA1*. Sur 3865 patientes testées pour *TP53*, 23 étaient porteuses d'une mutation de *TP53*, 4 appartenaient à des familles évocatrices d'un syndrome de Li Fraumeni. L'implémentation de cette stratégie nous permet de réaliser environ 1500 analyses par an et de réduire nos délais de rendu de résultats à 1 mois. Les données publiées en 2015 nous semblent justifier d'inclure, au titre du diagnostic des prédispositions au cancer du sein et/ou de l'ovaire, les gènes *PALB2* et de *RAD51C*. Le taux de détection de mutations de *TP53* chez les femmes atteintes d'un cancer du sein précoce (< 31 ans) récemment rapportée (6% ; Bougeard, JCO 2015) justifie d'inclure au titre du diagnostic le gène *TP53*, chez les femmes présentant un cancer du sein avant 31 ans, à condition de les avoir au préalable informées de l'impact d'un test positif. En revanche, les données actuellement disponibles pour les autres gènes sont insuffisantes pour considérer que leurs mutations ont une valeur diagnostique. Des études de co-ségrégation et des analyses d'association de ces mutations avec le phénotype sur de grandes cohortes sont nécessaires pour affiner la connaissance des risques.

**CO16 : Diagnostic moléculaire des prédispositions héréditaires aux tumeurs colorectales par séquençage haut-débit**

**Auteurs :**

Stéphanie BAERT-DESURMONT (1), Françoise CHARBONNIER (1), Sophie COUTANT (1), Myriam VEZAIN (1), Raphaël LANOS (1), Jacqueline BOU (1), Emilie BOUVIGNIES (1), Steeve FOURNEAUX (1), Sandrine MANASE (1), Gaëlle BOUGEARD (1), Thierry FREBOURG (1), Isabelle TOURNIER (1)

1. Service de Génétique et Inserm U1079, Centre Normand de Génomique Médicale et Médecine Personnalisée, CHU de Rouen, Inserm et Université de Rouen, Rouen, France

**Mots clefs :** Prédisposition aux tumeurs colorectales, Panel de gènes diagnostique, NGS

**Résumé :**

Le laboratoire de Génétique de Rouen réalise depuis plus de 20 ans le diagnostic moléculaire des formes Mendéliennes de tumeurs du colon : syndrome de Lynch, polyposes adénomateuses et hamartomateuses. Depuis 2012, nous avons développé par NGS sur plateformes Illumina une stratégie de séquençage simultané des exons, introns et séquences régulatrices en 5' et 3' des 10 gènes impliqués dans les formes Mendéliennes de tumeur colique (*MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *PMS2*, *APC*, *MUTYH*, *STK11*, *SMAD4*, *BMPR1A* et *PTEN*). Nous répondons ainsi aux situations cliniques ambiguës et explorons le chevauchement phénotypique entre ces différentes formes de prédisposition aux tumeurs du colon, sans être confrontés à la problématique des mutations incidentes. Notre stratégie combine un enrichissement par capture en phase liquide (SureSelect, Agilent), un séquençage haut-débit sur une plate-forme Illumina (GAIIIX puis MiSeq et NextSeq) et un double pipeline bioinformatique. L'analyse des images (RTA, Illumina) et le démultiplexage (CASAVA, Illumina) sont communs aux deux pipelines. L'alignement et le variant calling sont réalisés en parallèle par 2 logiciels CASAVA et BWA-GATK (Broad Institute) pour sécuriser la détection des variations, qui sont enfin annotées par Alamut Batch (Interactive BioSoftware). A l'issue de ce double pipeline, des rapports qualité sont générés automatiquement. Cette stratégie a été initialement validée par l'analyse de 70 patients présentant 120 variations (74 mutations ponctuelles, 34 insertions/délétions et 12 réarrangements de grande taille) et par celle de 50 patients analysés en parallèle par séquençage Sanger. La fiabilité et la robustesse de cette stratégie diagnostique étant démontrées, nous l'avons implémentée en routine et analysé plus de 1200 patients fin septembre 2015. Le rendement mutationnel de cette capture dédiée aux tumeurs colorectales s'élève à 21 %. Nous avons récemment optimisé la phase de capture en passant du kit SureSelect XT au QXT beaucoup plus rapide, et validé un algorithme de détection des réarrangements de grande taille à partir des données de séquençage haut débit. Cet algorithme appelé CANOES nous permet de nous affranchir de la réalisation systématique des QMPSF. Notre expérience confirme que cette stratégie par NGS représente un progrès important dans le diagnostic des formes Mendéliennes de tumeur du colon : (1) réduction des délais de rendu de résultats par l'analyse en parallèle de plusieurs gènes; (2) correction du diagnostic dans des familles présentant des phénotypes chevauchants (Syndrome de Lynch / Polypose atténuée); (3) détection d'altérations non identifiables par le séquençage Sanger et la QMPSF, telles les insertions de séquences *Alu*; (4) détection de mosaïques. La détection des mutations et réarrangements de grande taille par séquençage haut débit désormais maîtrisée, nous concentrons nos futurs développements sur la mise au point d'un outil intégré d'interprétation des variations de signification inconnue.

**CO17 : Etude de l'impact des mutations constitutionnelles hétérozygotes de TP53 par test fonctionnel dans les lymphocytes de patients présentant un syndrome de Li-Fraumeni**

**Auteurs :**

Yasmine Zerdoumi (1), Gaëlle Bougeard (1), Thierry Frébourg (1), Jean-Michel Flaman (1)

1. Inserm U1079-IRIB et Service de Génétique - Centre Normand de Génomique Médicale et Médecine Personnalisée, Inserm, Université de Rouen et CHU de Rouen, Rouen, France

**Mots clefs :** syndrome de Li-Fraumeni, TP53, essai fonctionnel, transcriptome

**Résumé :**

Le syndrome de Li-Fraumeni (LFS), qui résulte d'altérations constitutionnelles hétérozygotes du gène suppresseur de tumeur *TP53*, est caractérisé par une forte hétérogénéité phénotypique tant sur le plan du spectre tumoral que de l'âge de survenue des tumeurs. A partir d'une grande série de 415 patients LFS porteurs d'une altération de *TP53*, nous avons récemment montré qu'il existait un gradient de sévérité clinique des mutations de *TP53*, en mettant en évidence une association entre un âge précoce de survenue des tumeurs et la présence de mutations faux-sens avec effet dominant négatif (Bougeard *et al.*, *Journal of Clinical Oncology* 2015). Nous avons également montré, par l'étude du transcriptome de lymphocytes dérivés de 3 patients LFS porteurs de mutations *TP53* à effet dominant-négatif, que ces mutations altéraient de façon massive la réponse transcriptionnelle de p53 aux lésions de l'ADN (Zerdoumi *et al.*, *Human Mutation* 2013). Afin de confirmer et d'étendre ces résultats sur un grand nombre de patients, nous avons développé une version simplifiée de l'essai fonctionnel basée sur la mesure, par RT-PCR multiplex, de l'induction transcriptionnelle, par stress génotoxique dans les lymphocytes, de 6 gènes cibles de p53. Dans cet essai, nous avons défini un score de fonctionnalité de p53 correspondant à la moyenne des taux d'induction des 6 gènes sélectionnés. Nous avons obtenu un score de  $11,6 \pm 2,3$  dans les lymphocytes de 5 sujets contrôles de génotype *TP53* sauvage alors qu'un score de 1, traduisant l'absence totale d'induction, est observé dans des cellules contrôles présentant une altération homozygote de *TP53*, ce qui démontre la spécificité du test. Chez 16 patients LFS, porteurs de mutations faux-sens décrites connues comme ayant un effet dominant négatif selon la base de l'IARC, nous avons observé un score d'induction de  $3 \pm 0,9$  et chez 14 patients LFS porteurs d'une mutation *TP53* nulle (délétions, mutations frameshift, mutations stop) à l'origine d'une haplo-insuffisance, un score d'induction intermédiaire de  $6,5 \pm 1,3$ . Ainsi, ces résultats obtenus sur des lymphocytes de 30 patients LFS et de 5 contrôles confirment qu'il existe dans les cellules de patients LFS, avant la survenue d'un cancer, un défaut de la réponse transcriptionnelle de p53 aux lésions de l'ADN, ce qui définit un endophénotype et montre directement chez les patients l'effet dominant-négatif de certaines protéines mutantes sur la protéine sauvage. Ce nouveau test fonctionnel, réalisé à partir de lymphocytes, représente donc un nouvel outil puissant d'une part pour appréhender la corrélation génotype - phénotype dans le LFS, d'autre part pour classer des variations de signification inconnue et enfin pour détecter des patients présentant une inactivation de la voie p53, sans mutation identifiée par les analyses génétiques.

**CO17 : Etude in vivo, chez la souris, de la contribution des chimiothérapies au développement des cancers primitifs multiples dans le syndrome de Li-Fraumeni**

**Auteurs :**

Edwige Kasper (1), Sahil Adriouch (2), Yann Lacoume (3), Thierry Frébourg (1), Gaëlle Bougeard (1), Jean-Michel Flaman (1)  
1. Inserm U1079-IRIB et Service de Génétique - Centre Normand de Génomique Médicale et Médecine Personnalisée, Inserm, Université de Rouen et CHU de Rouen, Rouen, France  
2. Inserm U905-IRIB, Inserm et université de Rouen, Rouen, France  
3. Animalerie, UFR de médecine-pharmacie, Université de Rouen, Rouen, France

**Mots clefs :** syndrome de Li-Fraumeni, TP53, chimiothérapie, modèle murin

**Résumé :**

Le syndrome de Li-Fraumeni (LFS) est l'une des prédispositions héréditaires aux cancers les plus sévères, caractérisée par le développement précoce d'un large spectre tumoral. Ce syndrome résulte de mutations constitutionnelles du gène *TP53* qui code un facteur de transcription jouant le rôle de gardien du génome, en réponse aux lésions de l'ADN. Grâce à un nouveau test fonctionnel de la voie p53 que nous avons développé sur lymphocytes humains, nous avons montré que la réponse cellulaire aux lésions de l'ADN est altérée dans toutes les cellules des patients LFS (Zerdoumi *et al.*, *Human Mutation* 2013), indiquant que les mutations de *TP53* agissent comme mutations permissives aux stress génotoxiques. Le LFS se caractérise également par une incidence remarquablement élevée de cancers primitifs multiples (CPM), que nous avons récemment estimée à plus de 40 % (Bougeard *et al.*, *Journal of Clinical Oncology* 2015). Ce taux de CPM, la survenue de tumeurs secondaires observées dans les champs d'irradiation et le développement en rafale de plusieurs tumeurs après le traitement d'une première tumeur suggèrent que les chimiothérapies, comme la radiothérapie, contribuent par leur effet génotoxique à la survenue des CPM dans le LFS. Nous avons dérivé à partir du nouvel essai fonctionnel de p53 un test universel de génotoxicité basé sur l'induction transcriptionnelle des gènes cibles de p53 dans les lymphocytes (Zerdoumi *et al.*, *Mutation Research* 2015) et ce test *ex vivo* montre que les chimiothérapies classiques, à l'exception des poisons du fuseau, sont génotoxiques. Le but de notre étude est donc de démontrer *in vivo* dans un modèle murin, que la majorité des chimiothérapies conventionnelles, contrairement aux poisons du fuseau, ont un potentiel génotoxique important et pourraient contribuer au développement de CPM dans le LFS. Nous avons, dans un premier temps, adapté le test de génotoxicité humain aux splénocytes murins comprenant 60 % de lymphocytes B, grâce notamment à une analyse transcriptomique qui a permis d'identifier les gènes cibles murins de p53 en réponse aux lésions de l'ADN. Nous avons confirmé chez la souris que les principales chimiothérapies, à l'exception des poisons du fuseau, sont également génotoxiques. Nous avons ensuite adapté ce test de génotoxicité *in vivo* chez la souris en injectant les drogues en intra-péritonéal, puis en récupérant des splénocytes 3h après l'injection. *In vivo*, nous avons confirmé l'activité génotoxique de la majorité des chimiothérapies comme la doxorubicine ou la bléomycine et l'absence de génotoxicité des poisons du fuseau. Nous étudions actuellement, sur des souris KO *TP53*, modèle du LFS, l'incidence des tumeurs après exposition à des drogues à fort potentiel génotoxique et à des poisons du fuseau. L'objectif à long terme de cette étude est de déterminer, s'il est possible de réduire, chez les patients LFS, le risque de CPM par l'utilisation de chimiothérapies non génotoxiques.

**CO18 : Recherche de nouveaux facteurs génétiques prédisposant au cancer du sein dans l'étude GENESIS-iCOGS :  
apport de la biologie des systèmes**

**Auteurs :**

Christine Lonjou (1), Marie-Gabrielle Dondon (1), Séverine Eon-Marchais (1), Francesca Damiola (2), Laure Barjhoux (2), Morgane Marcou (1), Carole Verny-Pierre (2), Valérie Sornin (2), Lucie Toulemonde (1), Juana Beauvallet (1), Dorothée Le Gal (1), Noura Mebirouk (1), Juliette Coignard (1), Muriel Belotti (3), Olivier Caron (4), Marion Gauthier-Villars (3), Isabelle Coupier (5), Bruno Buecher (3), Alain Lortholary (6), Catherine Dugast (7), Paul Gesta (8), Jean-Pierre Fricker (9), Catherine Noguès (10), Laurence Faivre (11), Elisabeth Luporsi (12), Pascaline Berthet (13), Capucine Delnatte (14), Valérie Bonadona (15), Christine M Maugard (16), Pascal Pujol (17), Christine Lasset (15), Michel Longy (18), Yves-Jean Bignon (19), Claude Adenis (20), Laurence Venat-Bouvet (21), Liliane Demange (22), Hélène Dreyfus (23), Marc Frenay (24), Laurence Gladieff (25), Isabelle Mortemousque (26), Séverine Audebert-Bellanger (27), Florent Soubrier (28), Sophie Giraud (29), Sophie Lejeune-Dumoulin (30), Annie Chevrier (31), Jean-Marc Limacher (32), Jean Chiesa (33), Anne Fajac (34), Anne Floquet (18), François Eisinger (35), Julie Tinat (31), Chrystelle Colas (36), Sandra Fert-Ferrer (37), Clotilde Penet (38), Thierry Frebourg (31), Marie-Agnès Collonge-Rame (39), Emmanuelle Barouk-Simonet (18), Valérie Layet (40), Dominique Leroux (23), Odile Cohen-Haguenaer (41), Fabienne Prieur (42), Emmanuelle Mouret-Fourme (43), François Cornelis (44), Philippe Jonveaux (45), Odile Bera (46), Eve Cavaciuti (1), Emmanuel Barillot (1), Sylvie Mazoyer (2), Olga Siniinikova (47), Dominique Stoppa-Lyonnet (48), Nadine Andrieu (1), Fabienne Lesueur (1)

1. Inserm U900, Institut Curie, Mines ParisTech, Paris, France
2. CNRS UMR5286, Inserm U1052, Centre de Recherche en Cancérologie de Lyon, Université Lyon I, Lyon, France
3. Service de Génétique, Institut Curie, Paris, France
4. Service d'Oncogénétique Clinique, Institut Gustave Roussy, Villejuif, France
5. Service de Génétique Médicale et Oncogénétique, Hôpital arnaud de Villeneuve, CHU Montpellier, Montpellier, France
6. Service d'Oncologie Médicale, Centre Catherine de Sienne, Nantes, France
7. Service de Génétique, Centre Eugène-Marquis, Rennes, France
8. Service d'Oncogénétique, CH Georges Renon, Niort, France
9. Unité d'Oncologie, Centre Paul Strauss, Strasbourg, France
10. Hôpital René Huguenin, Institut Curie, Saint Cloud, France
11. Service de Génétique Médicale, Hôpital d'enfants, Dijon, France
12. Unité d'Oncogénétique, Centre Georges François Leclerc, Vandoeuvre-lès-Nancy, France
13. Unité de Pathologie Gynécologique, Centre François Baclesse, Caen, France
14. Unité d'Oncogénétique, ICL Alexis Vautrin, Nantes Saint Herblain, France
15. Unité de Prévention et Epidémiologie Génétique, Centre Léon Bérard, Lyon, France
16. Oncogénétique UF1422/UF6948, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
17. Service de Génétique Médicale et Oncogénétique, Hôpital Arnaud de Villeneuve, CHU Montpellier, Montpellier, France
18. Service de Génétique, Institut Bergonié, Bordeaux, France
19. Service de Génétique, Centre Jean-Perrin, Clermont-Ferrand, France
20. Service de Génétique, Centre Oscar-Lambret, Lille, France
21. Service d'Oncologie Médicale, Hôpital Universitaire Dupuytren, Limoges, France
22. Service de Génétique, Polyclinique Courlancy, Reims, France
23. Département de Génétique, CHU de Grenoble, Grenoble, France
24. Unité d'Oncogénétique, Centre Antoine Lacassagne, Nice, France
25. Service d'Oncologie Médicale, Institut Claudius Regaud, Toulouse, France
26. Service de Génétique, Hôpital Bretonneau, Tours, France
27. Département de Génétique Médicale en Pédiatrie, CHU Brest, Hôpital Morvan, Brest, France
28. Service de Génétique, Hôpital Tenon, Paris, France
29. Service de Génétique Moléculaire, Hôpital Edouard Herriot, Lyon, France
30. Service de Génétique Clinique, Hôpital Jeanne de Flandre, Lille, France
31. Département de Génétique, Hôpital Universitaire de Rouen, Rouen, France
32. Service d'Onco-hématologie, Hôpital Pasteur, Colmar, France
33. Service de Génétique, CHRU Hôpital Caremeau, Nîmes, France
34. Service d'Oncogénétique, Hôpital Tenon, Paris, France
35. Département d'Anticipation et de Suivi des Cancers, IPC, Inserm, UMR912, Marseille, France
36. Département de Génétique, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France
37. Service de Génétique, Centre Hospitalier de Chambéry, Chambéry, France
38. Service de Génétique, Institut Jean-Godinot, Reims, France
39. Service de Génétique, CHU Hôpital Saint-Jacques, Besançon, France
40. Service de Génétique, Hôpital Flaubert, Havre, France
41. Service de Génétique, Hôpital Saint-Louis, Paris, France
42. Service de Génétique, CHU de Saint-Etienne, Hôpital Nord, Saint Etienne, France
43. Service de Génétique, Institut Curie, Hôpital, René Huguenin, Saint Cloud, France
44. Service de Génétique, Hôpital Lariboisière, Paris, France
45. Laboratoire de Génétique, CHU Hôpital de Brabois, Vandoeuvre-lès-Nancy, France
46. Unité d'Oncogénétique, CHU de Martinique, Fort-de-France, France
47. Unité mixte de Génétique Constitutionnelle des Cancers Fréquents, Hospices Civils de Lyon, Centre Léon Bérard, Lyon, France
48. Service de Génétique, Institut Curie, Mines ParisTech, Paris, France

**Mots clefs :** cancer du sein, prédisposition génétique, SNPs, biologie des systèmes

## Résumé :

Parmi les familles de cancer du sein (CS) conduisant à une analyse des gènes *BRCA1* et *BRCA2*, moins de 20% présentent une mutation. De rares mutations de *TP53*, *PTEN*, *STK11* et *CDH1* sont également associées au risque de CS ainsi que des variants dans des gènes définis à ce jour comme modérés comme *ATM*, *CHEK2* et *PALB2*. L'ensemble de ces gènes explique 10% des formes familiales de CS. Les études pan-génomiques (GWAS) en population générale ont mis en évidence des SNPs situés dans une centaine de loci associés à un faible risque de CS ( $OR < 1,2$ ). Cependant, environ 50% du risque familial restent encore inexpliqués.

L'étude GENESIS, composée de paires de sœurs atteintes d'un CS et de témoins, est une ressource nationale pour rechercher des facteurs de prédisposition au CS. Le projet GENESIS-iCOGS a pour objectif de tester dans cette population très sélectionnée les associations identifiées dans les GWAS pour faciliter la cartographie fine des régions d'intérêt et identifier de nouveaux loci au moyen de stratégies d'analyse multi-marqueurs. L'originalité de ces approches est la prise en compte du fait que les SNPs s'intègrent dans des voies ou « pathways » biologiquement fonctionnels et rassemblant de nombreux gènes.

1383 cas index et 1328 témoins non apparentés ont été génotypés avec la puce à ADN iCOGS (Illumina), comprenant 211 155 SNPs choisis en raison de leur localisation dans les régions identifiées dans les GWAS par le consortium COGS (Collaborative Oncological Gene-environment Study). L'analyse d'association simple-marqueur a été menée avec PLINK. Les analyses multi-marqueurs ont été réalisées avec les méthodes suivantes : VEGAS2 qui se focalise sur les gènes, PLINKset et ALIGATOR qui s'intéressent à l'ensemble des gènes d'une voie biologique, et les méthodes d'analyse réseaux dmGWAS et iPINBPA qui prennent en compte les interactions protéine-protéine connues.

Après les contrôles de qualité du génotypage, 1355 cas et 1327 témoins d'origine européenne et 191 423 SNPs ont été inclus dans les analyses. L'analyse simple-marqueur a permis de détecter la région de *FGFR2* au seuil de signification  $p \leq 10^{-7}$  (32 SNPs significatifs). D'autres loci sont détectés au seuil  $p \leq 10^{-6}$ , dont *TOX3* (5 SNPs), *NEK10* (5 SNPs) et *KIAA1244* (1 SNP). L'analyse menée avec VEGAS2 met en évidence 6 autres gènes au seuil  $p \leq 10^{-6}$  dont *CASC16* et *SLC4A7*. La prise en compte des réseaux biologiques montre l'implication de modules fonctionnels appartenant à plusieurs voies de signalisation dans la prédisposition au CS. En particulier, l'atlas du cancer ACSN souligne l'importance de modules de la réparation de l'ADN, de l'apoptose et de la survie.

Cette étude montre que la combinaison à l'échelle du génome d'analyses simple-marqueur et multi-marqueurs peut non seulement permettre l'identification de nouveaux gènes potentiellement associés au CS mais aussi aider à l'interprétation biologique des associations et à l'identification de marqueurs causaux dans la population à haut risque étudiée.



**8**  
èmes

ASSISES DE GÉNÉTIQUE HUMAINE ET MÉDICALE  
LYON, CITÉ INTERNATIONALE 3, 4 ET 5 FÉVRIER 2016

[www.assises-genetique.org](http://www.assises-genetique.org)

COMMUNICATIONS ORALES  
SIMULTANÉES

COMPLIANT APPROVED BY



Infos générales & inscriptions: [mary.abbas@mcocongres.com](mailto:mary.abbas@mcocongres.com)  
Infos sponsoring & partenariat: [natalie.ruxton@mcocongres.com](mailto:natalie.ruxton@mcocongres.com)



---

# COMMUNICATIONS ORALES SIMULTANÉES

BASE MOLÉCULAIRE DES PATHOLOGIES 1 : DÉFICIENCE INTELLECTUELLE  
ET AUTISME

---

**CS01 : Retour d'expérience sur 340 patients ayant eu un séquençage d'exome en solo pour le diagnostic d'une anomalie du développement ou déficience intellectuelle**

**Auteurs :**

Julien Thevenon (1), Sophie NAMBOT (1), Yannis DUFFOURD (2), Paul KUENTZ (3), Salima El Chehadeh-Djebbar (4), Daphne LEHALLE (1), Nolwenn Jean-Marçais (5), Alice Masurel-Paulet (5), Ange-Line BRUEL (3), Charlotte Poé (6), Thibaud Jouan (3), Martin Chevarin (7), Nadège Gigot (3), Mathilde Lefebvre (3), Emilie Tisserant (3), Judith St-Onge (3), Jean-Baptiste RIVIERE (3), Laurence FAIVRE (1), Christel THAUVIN-ROBINET (1)

1. Centre de Génétique et Centre de référence «Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs», Hôpital d'Enfants, Centre Hospitalier Universitaire de Dijon, dijon, France
2. Fédération Hospitalo-Universitaire Médecine Translationnelle et Anomalies du Développement (FHU TRANSLAD), Centre Hospitalier Universitaire de Dijon, dijon, France
3. Laboratoire de Génétique Moléculaire, Plateau Technique de Biologie, Centre Hospitalier Universitaire de Dijon, dijon, France
4. Service de Génétique médicale, CHU de strasbourg-Hôpital de Hautepierre, strasbourg, France
5. Service de Génétique médicale, Centre Hospitalier Universitaire de Dijon, dijon, France
6. Laboratoire de Génétique Moléculaire, Plateau Technique de Biologie, Centre Hospitalier Universitaire de Dijon, d, France
7. Laboratoire d'anatomo-pathologie, Plateau technique de biologie, Centre Hospitalier Universitaire de Dijon, dijon, France

**Mots clefs :** séquençage d'exome, anomalies du développement, partage de données

**Résumé :**

Le SHD d'exome (SHD-E) a démontré sa redoutable efficacité dans l'identification de gènes responsables de maladies rares. Cette stratégie s'applique particulièrement à l'étude de pathologies jusque-là résistantes aux techniques de génétiques conventionnelles telles que les anomalies du développement (AD), majoritairement sporadiques, cliniquement et génétiquement hétérogènes. Dans la littérature, de larges séries faiblement biaisées rapportent un rendement diagnostique moyen de 28-30%. Cela en fait l'outil le plus rentable pour le diagnostic de maladies non diagnostiquées cliniquement, sans compter la possibilité de ré-analyse prospective des données en fonction de l'identification de nouvelles maladies génétiques. Ce travail présente l'expérience de 30 mois de la FHU-TRANSLAD dans l'utilisation du SHD-E pour le diagnostic de 340 patients porteurs d'AD et/ou déficience intellectuelle, avec une CGH-array normale (326 patients avaient un âge pédiatrique). Lorsque cela était souhaité par la famille, une liste de 56 gènes a été analysée conduisant à une découverte secondaire. Le SHD-E a été réalisé dans le cadre d'une collaboration avec une plateforme de séquençage à très haut débit et les données brutes ont été analysées et interprétées sur le centre de calcul de l'Université de Bourgogne. La profondeur de séquençage moyenne était de 90x, avec 93% des régions codantes référencées dans RefSeq séquencées par 10 lectures au moins. L'interprétation diagnostique s'est concentrée sur les variations rares, modifiant la séquence codante d'un gène précédemment associé à une pathologie humaine (OMIM). Une double interprétation conservatrice clinico-biologique a été réalisée pour évaluer les corrélations génotype-phénotype soutenant les variants candidats. Par individu, la ségrégation familiale de 0 à 5 variations candidates a été réalisée par séquençage Sanger. A ce jour, 290 résultats ont été rendus avec un rendement diagnostique global de 27% de résultats positifs et de 30% de résultats non-concluants, en l'état actuel des connaissances. Chez une centaine de patients, la ré-analyse des données 24 mois après le premier résultat a permis la réalisation de 5 diagnostics additionnels (5%) grâce aux nouvelles données moléculaires et phénotypiques partagées dans la littérature et les bases de données internationales. Une découverte secondaire a été mise en évidence (mutation pathogène du gène *BRCA2*). En conclusion, ce travail démontre la faisabilité du SHD-E en solo pour le diagnostic des AD, et l'intérêt de disposer de données pangénomiques pour une ré-analyse prospective sans coût expérimental additionnel. Son intégration dans la pratique clinique s'avère donc d'un intérêt majeur pour les patients atteints de maladies rares, non seulement pour le diagnostic, mais également, pour la prévention des co-morbidités et d'éventuelles complications, un conseil génétique adapté et la découverte de possibles pistes thérapeutiques.

**CS02 : Apport du séquençage massivement parallèle des gènes connus en pathologie dans le diagnostic de la déficience intellectuelle.**

**Auteurs :**

Boris Keren (1), Cyril Mignot (2), Caroline Nava (1), Corinne Mach (3), Elodie Lejeune (3), Aurélie Jacquette (2), Perrine Charles (2), Claude Estrade (3), Valérie Olin (3), Aurélie Lafitte (3), Sabina Karagic (3), Sandra Whalen (4), Isabelle Marey (2), Alexandra Afenjar (4), Solveig Heide (3), Fanny Mochel (3), Diane Doummar (5), Thierry Billette de Villemeur (5), Agnès Guet (5), Diana Rodriguez (5), Marie-Laure Moutard (5), Yannick Marie (6), Sandra Chantot-Bastaraud (7), Renaud Touraine (8), Fabien Lesne (2), Anne Faudet (2), Florent Soubrier (3), Delphine Heron (2), Christel Depienne (1)

1. Département de Génétique, ICM UPMC, Inserm UMR\_S1127/CNRS UMR 7225, GH Pitié-Salpêtrière, APHP, Paris, France
2. Département de Génétique, centre de référence déficience intellectuelle de causes rares, GH Pitié-Salpêtrière, APHP, Paris, France
3. Département de Génétique, GH Pitié-Salpêtrière, APHP, Paris, France
4. Département de Génétique, centre de référence déficience intellectuelle de causes rares, GH Armand-Trousseau, APHP, Paris, France
5. Service de Neuropédiatrie, GH Armand-Trousseau, APHP, Paris, France
6. ICM, plateforme de génotypage et séquençage, GH Pitié-Salpêtrière, Paris, France
7. Laboratoire de Cytogénétique, GH Armand-Trousseau, APHP, Paris, France
8. Service de Génétique, CHU Nord, Saint-Etienne, France

**Mots clefs :** NGS, déficience intellectuelle

**Résumé :**

La déficience intellectuelle (DI) est une pathologie d'étiologie très hétérogène. Pour cette raison, le séquençage massivement parallèle (NGS) de l'exome est de plus en plus utilisé en diagnostic lorsque le bilan génétique initial est négatif.

Nous avons séquencé 119 cas index atteints de DI avec le panel TruSight One d'Illumina, qui cible les séquences codantes de 4813 gènes impliqués en pathologie humaine. L'objectif était une analyse de sensibilité proche de l'exome, mais de moindre coût. Notre stratégie a été de placer cet examen en dernière intention, après une ACPA négative, en donnant la priorité aux familles avec projet de grossesse. Quand cela était possible, les patients ont été analysés avec leurs parents.

Un diagnostic probable ou certain a pu être réalisé chez 34 cas index (28,6%) sur des mutations retrouvées dans 34 gènes différents : 22 hétérozygotes de novo, 3 hétérozygotes avec mosaïque faible chez un parent, 5 hétérozygotes composites, 4 liés à l'X, et aucun homozygote. Nous avons par ailleurs réalisé 2 diagnostics « partiels », où la mutation identifiée n'explique pas l'intégralité du phénotype, ainsi que 8 variants possiblement pathogènes que nous avons classés « VOUS » en raison d'un faisceau de preuve insuffisant. Enfin, une mutation pathogène sans rapport avec l'indication initiale (diagnostic fortuit) a été retrouvée dans 7 cas.

Le pourcentage de diagnostics est de 29% (30/103) pour les trios (enfant atteint+parents) et 25% (2/8) pour les familles avec deux enfants atteints (6 quatuors enfants atteints+parents, un trio de demi-frères atteints+mère, un couple de 2 frères atteints sans les parents). Deux diagnostics seulement ont pu être réalisés sur les 8 cas sporadiques analysés sans parents (1/6) ou avec un seul parent (1/2).

Le rendement diagnostique varie selon le phénotype. Sur 43 patients présentant une DI et un autisme (avec développement initial normal puis régression autistique), nous avons réalisé un unique diagnostic probable soit un taux de 2,3%. A l'inverse, 43,4% de diagnostics ont été réalisés chez les 76 autres patients avec DI sans autisme. Nous avons par ailleurs réalisé 42% (14/33) de diagnostics chez nos patients épileptiques (encéphalopathie épileptique ou épilepsie au second plan). Enfin, 6/14 patients (43%) présentant des signes neurologiques autres que l'épilepsie (chorée, dystonie, syndrome cérébelleux, pyramidal ou extra-pyramidal) ont eu un diagnostic.

Au final, notre stratégie permet une avancée significative dans la résolution diagnostique des patients atteints de DI. Notre expérience nous encourage à continuer d'analyser les patients en trio. Une réflexion est toutefois nécessaire afin de mieux caractériser les indications cliniques de cet examen. En particulier, nous considérons que la DI dans le cadre d'un syndrome autistique ne semble pas une bonne indication en raison du caractère polygénique probable de cette pathologie.

**CS03 : Whole exome sequencing in autism spectrum disorder: confirmation of ASD-risk genes and identification of new candidates**

**Auteurs :**

Julien Van-Gils (1), Sophie Calderari (2), Julien Buratti (2), Alexandre Mathieu (2), Marion Benabou (2), Anna Maruani (3), Frédérique Amsellem (3), Beggiato Anna (3), richard Delorme (3)

1. Laboratoire de génétique humaine et fonctions cognitives, Institut Pasteur , Bordeaux, France
2. Laboratoire de génétique humaine et fonctions cognitives, Institut Pasteur , paris, France
3. département de psychiatrie de l'enfant et de l'adolescent, CHU Robert Debré, paris, France

**Mots clefs :** Whole Exome Sequencing, Autism Spectrum Disorder, ASD-risk genes, candidate gene, KIF1A, ACTL6B, SHANK3, MECP2

**Résumé :**

Autism Spectrum Disorders (ASD) are heterogeneous neurodevelopmental disorders diagnosed in more than 1% of the population and characterized by impaired social communication and restricted or stereotyped interests. Thanks to whole exome sequencing technology, several ASD-risk genes were identified. Here, we analysed 99 whole exome sequencing data from 27 families (23 ASD families and 4 control families) to identify inherited and *de novo* variants associated with ASD. We found 28 damaging *de novo* mutations in 15 of 27 (55.6%) families for an average of 0.62 *de novo* damaging mutations per individual. Among these genes, 6 were already reported as ASD-risk genes. In three families, the identified mutations in *SCN2A* [MIM182390], *GRIN2B* [MIM138252] and *SHANK3* [MIM606230] most likely contribute to the diagnosis of ASD. In two families with more than one affected child, the *de novo* ASD risk variants — *MECP2* [MIM300005] and *CNTN6* [MIM607220] — were not shared by the affected siblings. We also identified a *de novo* stopgain mutation in the *POGZ* gene [MIM614787], known as one of the major gene for ASD, in a control child. Finally, we identified *de novo* damaging mutations in 2 new candidate genes for ASD: *ACTL6B* (also known as *BAF53b*) [MIM612458] and *KIF1A* [MIM601255]. *ACTL6B* is a subunit of nBAF complex involved in the neuron-specific chromatin remodelling and has been reported in neurodevelopmental and intellectual disability (ID) disorders. *KIF1A* is involved in the transport of synaptic vesicles along axons and has already been reported as being involved in individual cases of nonsyndromic ID.

Our results confirm the contribution of *de novo* mutations in ASD, but also highlight the crucial need of including unaffected siblings and healthy controls to better interpret the data. Our pilot study has only analysed the submerged part of the genetic iceberg of ASD. The integration of polygenic dimension, including the burden of inherited rare mutations and the accumulation of a high load of low-risk alleles, will allow us to better understand the complex genetic landscape of ASD.

**CS04 : Séquençage haut débit ciblé en diagnostic : retours d'expériences dans le cadre de la déficience intellectuelle.**

**Auteurs :**

Amelie PITON (1), Franschescha Mattioli (2), Elsa NOURISSON (1), Claire FEGER (1), Julia LAUER-ZILLHARDT (3), Yvan HERENGER (1), Laura MARY (1), Jamel CHELLY (1), Jean MULLER (1), Jean Louis MANDEL (3), Bénédicte GERARD (4)

1. Laboratoire de Diagnostic Génétique, CHRU strasbourg, Strasbourg, France
2. Département de génétique, IGBMC, Strasbourg, France
3. Laboratoire de Diagnostic Génétique, CHRU strasbourg, , France
4. Laboratoire de Diagnostic Génétique, CHRU strasbourg, strasbourg, France

**Mots clefs :** NGS, déficience intellectuelle, diagnostic, panel ciblé, réseau

**Résumé :**

Depuis plus de 3 ans, nous avons mis en place le séquençage de grands panels de gènes dans le cadre du diagnostic de la déficience intellectuelle (DI) (220, 275, et aujourd'hui 454 gènes couvrant les DI, les troubles du spectre autistique et les épilepsies). Ces approches visent à développer un test fiable, avec une sensibilité diagnostique suffisante, et accessible à toutes les familles désirant un diagnostic moléculaire en France.

Plus de 300 patients ont été analysés à Strasbourg et 79 diagnostics de certitude ont été posés : il s'agit souvent de néo-mutations (73 %), survenant dans des gènes à transmission AD parfois récurrents (*DYRK1A* et *TCF4*). L'identification de ces mutations pathogènes a permis dans certains cas la redéfinition de spectres cliniques associés à des mutations de gènes connus (*TCF4*, *DYRK1A*) ou nouvellement décrits comme *NAA10*, *TBR1*, *ZBTB20*, *POGZ*. Le réseau DI de l'ANPGM, en accord avec la filière DéfiScience, a défini un panel des 44 gènes les plus fréquemment mutés (DI44), qui sera proposé rapidement dans différents laboratoires du territoire français (sensibilité diagnostique attendue de plus de 10 %).

La sensibilité diagnostique des panels DI220 et DI275 gènes est de l'ordre de 26 %. Parmi les 314 patients étudiés, 11,8 % présentaient un variant clairement pathogène et 24,9 % un variant de classe 3. Près de la moitié de ces derniers ont été secondairement reclassés comme pathogènes grâce aux analyses génétiques ou fonctionnelles et à l'expertise des cliniciens prescripteurs. Ce processus dynamique de reclassification implique les laboratoires experts du gène et s'affine avec l'accumulation des connaissances et le « data sharing »; ces dossiers sont revus au cours de réunions pluridisciplinaires par visioconférence, ce qui permet d'aboutir à une conclusion concertée clinico-biologique.

Cette technologie complexe nécessite la mise en place de nouvelles organisations. Les confirmations par séquençage Sanger alourdissent de façon considérable la réalisation de ces tests. Nous proposons des méthodes alternatives pour améliorer le processus : 1) mise en place d'un contrôle d'identité par génotypage de 6 SNPs présents dans les régions capturées, 2) séquençage ciblé des ADN parentaux en pools en parallèle du patient, permettant d'avoir directement l'information sur la provenance de chaque variant ce qui réduit de façon importante les confirmations Sanger et facilite l'interprétation des variants.

L'évaluation de l'utilité clinique de ce test (sensibilité diagnostique; évaluation médico économique ; définition de la population cible en France) devrait permettre l'implantation rapide d'un test accessible à tous. Pour ces familles recevant un diagnostic moléculaire d'une extrême rareté, un site d'échange et de collecte de données, en vue d'établir l'histoire naturelle de la maladie et de définir de nouvelles populations cibles de thérapies pharmacologiques, est en cours de mise en place (GenIDA).

**CS05 : GenIDA: un registre internet et réseau social international pour les patients atteints de déficience intellectuelle et/ou d'autisme d'origine génétique permettant de collecter des données médicales et définir l'histoire naturelle de ces troubles.**

**Auteurs :**

Florent Colin (1), Timothée Mazzucotelli (1), Pierre Parrend (2), Aline Deruyver (2), Tjitske Kleefstra (3), David Koolen (3), Jean-Louis Mandel (1)

1. Département de Neurogénétique et Médecine Translationnelle, IGBMC - INSERM U964 - CNRS UMR7104 - Université de Strasbourg, Illkirch-Graffenstaden, France

2. Equipe Bioinformatique théorique, Fouille de données et Optimisation stochastique, Engineering, informatics and imaging sciences laboratory (ICube) - CNRS UMR 7357 - ENGEES - INSA of Strasbourg, Illkirch-Graffenstaden, Allemagne

3. Department of Human Genetics, Radboud University Nijmegen Medical Centre, Nijmegen, Pays-Bas

**Mots clefs :** Déficience intellectuelle, Troubles du spectre autistique, Registre de patients, Réseau social, Histoire naturelle, Comorbidités

**Résumé :**

La déficience intellectuelle (DI) et les troubles du spectre autistique (TSA) sont un problème majeur sur le plan social, éducationnel et de santé public de part leur fréquence cumulée (environ 2,5%). La DI et les TSA se caractérisent par une hétérogénéité génétique exceptionnelle qui sous-tend l'hétérogénéité phénotypique tant sur le degré de sévérité que sur les problèmes médicaux associés. Les récents progrès dans l'analyse du génome ont permis d'identifier de nombreux CNVs (copy number variant) ainsi que plus de 600 gènes impliqués dans des formes monogéniques de DI/TSA. Un nombre croissant de diagnostics génétiques est fait pour les individus atteints de DI/TSA, mais l'hétérogénéité génétique rend extrêmement difficile la détermination des corrélations génotype/phénotype ainsi que les histoires naturelles. Actuellement, des traitements symptomatiques pour les comorbidités sont proposés mais avec des opportunités très limitées de connaître précisément les efficacités et les potentielles contre-indications.

Nous avons initié le développement d'un modèle alternatif de base de donnée pour les DI/TSA d'origine génétique, organisé sous la forme d'un registre internet de patient et d'un réseau social où la plupart des informations clinique (HPO-compatible) sont saisies et mises à jour par les familles des patients DI/TSA grâce à des questionnaires traduit en différentes langues (actuellement Français, Anglais et Néerlandais). Les familles auront la possibilité d'interagir si elles le souhaitent par l'intermédiaire de réseaux sociaux « CNVs / gènes » spécifiques auxquels des professionnels ainsi que des associations de patients pourront être rattachés. Une présentation descriptive anonymisée issue de l'analyse des réponses aux questionnaires et validée par notre conseil scientifique et éthique sera accessible pour les familles et les professionnels pour chaque cohorte. Les professionnels intéressés auront la possibilité de soumettre des questionnaires spécifiques ou de recruter des patients pour des études cliniques. De telles propositions seront évaluées par notre conseil scientifique et éthique qui contrôlera l'intérêt médical, la faisabilité ainsi que le respect des règles éthiques.

Nous présenterons la structure et les fonctionnalités du projet GenIDA ([genida.unistra.fr](http://genida.unistra.fr)) qui est actuellement en phase de bêta-testing, ainsi que les résultats concernant l'analyse de nos principales cohortes de patients participantes. Notre stratégie vise à collecter des informations sur l'histoire naturelle et les comorbidités des formes rares et monogéniques des DI/TSA, ainsi que les éventuelles contre-indication pharmacologique. Ce projet permet l'implication directe des familles (patient empowerment) et devrait avoir un impact sur les soins apportés aux patients. La mise en place de cohortes de patients devrait par ailleurs favoriser l'initiation d'études cliniques à l'échelle internationale.

**CS06 : Identification d'un profil neuro-développemental spécifique chez les patients atteints du syndrome Kabuki par mutations KMT2D.**

**Auteurs :**

Natacha Lehman (1), Anne-Claire Mazery (2), Antoine Visier (3), Clarisse Baumann (4), Dominique Lachesnais (4), Annick Toutain (5), Sylvie Odent (6), Myriam Mikaty (7), Cyril Goizet (8), Emmanuelle Taupiac (8), Marie-Line Jacquemont (9), Elodie Sanchez (10), Elise Schaefer (11), Vincent Gatinois (12), Laurence Faivre (13), Delphine Minot (13), Honorine Kayirangwa (14), Kim-Hanh Le Qang Sang (14), Nathalie Boddaert (14), Didier Lacombe (8), Isabelle Toutou (15), Marlène Rio (14), Jeanne Amiel (14), Stanislas Lyonnet (14), Damien Sanlaville (16), Marie-Christine Picot (3), Sophie Bayard (17), David Genevieve (1)

1. génétique médicale, CHRU Montpellier, Montpellier, France
2. Département de génétique médicale, Hôpital Necker Enfants Malades, Institut Imagine, Paris, France
3. Département de l'information médicale, CHRU Montpellier, Montpellier, France
4. génétique médicale, Hôpital Robert Debré, Paris, France
5. génétique médicale, CHU Tours, Tours, France
6. génétique médicale, CHU Rennes, Rennes, France
7. génétique médicale, CHU Rennes, Rennes, France
8. génétique médicale, CHU Bordeaux, Bordeaux, France
9. génétique médicale, CHU Réunion, Réunion, Réunion
10. Unité INSERM U1183, INSERM, Montpellier, France
11. génétique médicale, CHU Strasbourg, Strasbourg, France
12. Laboratoire de génétique des maladies rares et maladies auto inflammatoires, CHRU Montpellier, Montpellier, France
13. génétique médicale, CHU Dijon, Dijon, France
14. génétique médicale, Hôpital Necker Enfants Malades, Institut Imagine, Paris, France
15. Laboratoire de génétique des maladies rares et maladies auto inflammatoires, INSERM, Montpellier, France
16. génétique médicale, CHU Lyon, Lyon, France
17. Laboratoire Epsilon, EA 4556, Universités Montpellier, Montpellier, France

**Mots clefs :** Kabuki, KMT2D, WISC4, QI, profil intellectuel, corrélation génotype phénotype

**Résumé :**

Le syndrome Kabuki (SK - OMIM 147920) est une anomalie rare du développement caractérisée par l'association d'anomalies congénitales multiples, et d'une déficience intellectuelle. Le diagnostic se base sur des variations morphologiques spécifiques du visage, la présence d'un retard de croissance, des anomalies squelettique et des dermatoglyphes. D'autres symptômes peuvent également être retrouvés. Sur le plan génétique, le diagnostic repose sur la présence d'une mutation du gène *KMT2D* ou *KDM6A*.

On relève une grande variabilité clinique dans l'expression de ce syndrome tant sur le plan morphologique que cognitif. Dans ce contexte, le rendement intellectuel s'étend de la normalité à la déficience sévère.

L'objectif de cette étude consiste à investiguer de manière standardisée le rendement intellectuel d'enfants atteints du SK. Corollairement, nous nous sommes intéressés aux associations potentielles entre le rendement intellectuel et certaines caractéristiques cliniques.

Nous avons recrutés trente et un enfants, âgés entre 6 et 16 ans, atteints du SK (mutation KMT2D) dans le cadre d'un PHRC national. Tous ont complété l'échelle d'intelligence pour enfants 4ème édition (WISC 4). L'ensemble des indices de l'échelle ont été calculés, à savoir le Quotient intellectuel total (QI), l'indice de compréhension verbal (ICV), l'indice de raisonnement perceptif (IRP), l'indice de vitesse de traitement (IVT) et l'indice de mémoire de travail (IMT). Différentes comorbidités ont été recensées telles que l'épilepsie, la microcéphalie, la fente palatine, des troubles visuels ou des troubles auditifs.

Nous avons à la fois privilégié une approche statistique de groupe et individuelle.

Les résultats montrent que:

Les patients avec mutation tronquante (stop prématuré, décalage de cadre de lecture ou mutation d'épissage) présentent en moyenne un QI et un ICV significativement inférieurs de 10 points aux patients sans mutation ( $p=0.05$ ). Les patients avec une atteinte visuelle ont un QI, un ICV et un IRP plus bas que les patients sans atteinte visuelle (respectivement,  $p=0.045$ ,  $p=0.033$  et  $p=0.035$ ).

Les filles ont une tendance à un meilleur QI ( $p=0.076$ ) et un meilleur score IVT ( $p=0.022$ ).

Le calcul des scores de contraste de l'échelle a permis de mettre en évidence un profil intellectuel caractérisé par des forces en IMT et ICV, au détriment des indices IRP et IVT. Cependant ce profil n'est valable que pour un peu moins de la moitié de l'échantillon.

Il s'agit à notre connaissance de la plus grande cohorte de patients avec SK par mutation *KMT2D* et étude WISC4. Cette étude souligne l'hétérogénéité du profil intellectuel dans le SK. Elle apporte également des éléments majeurs pour la prise en charge clinique, en mettant en évidence des éléments génétiques, démographiques, ainsi que des comorbidités qui modulent le profil intellectuel d'enfants avec SK.

---

# COMMUNICATIONS ORALES SIMULTANÉES

SESSION SIMULTANÉE 2 : EMPREINTE ET RÉGULATION GÉNOMIQUE

---

**CS07 : Séquençage du miRnome plasmatique et analyse d'association avec la néphropathie diabétique chez des patients atteints de diabète de type 2**

**Auteurs :**

Maguelonne Roux (1), Claire Perret (1), Eva Feigerlova (2), David-Alexandre Trégouët (1), Samy Hadjadj (2)

1. UMR\_S 1166, Sorbonnes Universités, Université Pierre et Marie Curie (UPMC Univ 06), INSERM, ICAN Institute for Cardiometabolims and Nutrition, Paris, France

2. Service d'Endocrinologie-Diabétologie, Centre d'Investigation Clinique, CHU de Poitiers, Poitiers, France

**Mots clefs :** miRSeq, microARNs circulants, diabète de type 2, néphropathie diabétique

**Résumé :**

Les microARNs (ou miARNs) sont des petits ARNs non codants qui participent à la régulation post-transcriptionnelle des gènes. Leur rôle clé dans la susceptibilité aux maladies humaines est désormais largement établi, en particulier dans le contexte des désordres cardiométaboliques. Les miARNs peuvent être mesurés dans différents types d'échantillons biologiques (plasma, sérum, urine, etc) au moyen de puces dédiées ou par des approches de séquençage nouvelle génération (miR-Seq), rendant ainsi possible le profilage à grande échelle des miARNs dans des cohortes épidémiologiques.

Dans ce travail, nous décrivons les résultats d'une étude pilote miR-seq visant à quantifier l'ensemble des miARNs (miRnome) présents dans des échantillons plasmatiques de patients atteints de diabète de type 2 (DT2) avec pour objectif d'identifier des miARNs associés au risque de néphropathie diabétique (ND).

Les miARNs ont été isolés à partir d'échantillons plasmatiques de 46 patients atteints de DT2, la moitié souffrant de ND. Les bibliothèques de miARNs ont été préparées via le kit de préparation *NEBNext small RNA* et séquencées sur un instrument HiSeq d'Illumina. Les *reads* séquencés ont ensuite été traités avec un pipeline bioinformatique afin d'identifier les miARNs et quantifier leurs niveaux d'expression dans le plasma. Une analyse différentielle a ensuite été menée au moyen d'un modèle linéaire afin de détecter les miARNs présentant des niveaux d'expression significativement différents selon le statut ND des patients.

Nous avons pu détecter 381 miARNs matures connus et exprimés chez plus de 90% des sujets analysés. Plusieurs miARNs contrôles ont été sélectionnés pour être validés par qRT-PCR. Les mesures d'expression obtenues par qRT-PCR étaient cohérentes avec celles produites par miR-seq. Les corrélations observées varient de 0,67 à 0,87. La plus faible p-value observée dans l'analyse différentielle était de  $p = 1.57 \cdot 10^{-3}$  pour le miR hsa-miR-362-5p mais n'atteignait pas le seuil de correction de tests multiples de Bonferroni ( $p < 1.3 \cdot 10^{-4}$ ). En revanche, parmi les 10 miARNs les plus significatifs, 3 étaient prédits comme ciblant un gène commun. Ces 3 miARNs étaient faiblement corrélés entre eux ( $\rho = -0.03$ ;  $\rho = 0.07$  et  $\rho = 0.19$ ) suggérant ainsi que leur gène cible pourrait être un nouveau gène candidat pour la DN.

Pour conclure, cette étude a généré un certain nombre de miARNs candidats et un gène cible potentiellement impliqués dans la susceptibilité à la ND chez des patients atteints de DT2. La validation, dans d'autres échantillons indépendants, de ces observations est en cours. Ce travail fournit des éléments soutenant l'intérêt de l'approche miR-seq comme une nouvelle stratégie permettant de découvrir de nouveaux biomarqueurs plasmatiques dans des études épidémiologiques.

**CS08 : La méthylation de l'îlot CpG de l'exon 2 du gène POLG est-elle un facteur de régulation de la quantité d'ADNmt dans des cellules différenciées humaines ?**

**Auteurs :**

Julie STEFFANN (1), Aurore POULIET (1), Houda ADJAL (1), Christine BOLE (2), frederic TORES (2), Cécile FOURRAGE (1), Agnès ROTIG (1), Arnold MUNNICH (1), Jean-Paul BONNEFONT (1)

1. Service de Génétique, Hopital Necker-Enfants Malades, Paris, France
2. Plateforme de génomique, Institut Imagine, Hopital Necker-Enfants Malades, Paris, France

**Mots clefs :** développement, mitochondrie, méthylation, embryon préimplantatoire, humain, ADN mitochondrial, POLG

**Résumé :**

La quantité d'ADN mitochondrial (ADNmt) cellulaire est régulée de façon stricte selon les types cellulaires, mais les mécanismes de régulation demeurent inconnus. Le gène nucléaire POLG humain qui code pour la sous unité catalytique de la polymérase gamma A, enzyme responsable de la réplication de l'ADNmt, possède un îlot CpG dans l'exon 2, qui est conservé chez la souris. La perte de méthylation de cet îlot CpG corrèle avec l'augmentation du nombre de copie d'ADNmt dans des cellules souches embryonnaires humaines, et des cellules cancéreuses humaines ainsi que dans des tissus murins.

Nous avons quantifié le niveau de méthylation de l'îlot CpG du gène POLG dans divers tissus humains témoins à différents stades du développement. Nous avons également recherché la possible variation du niveau de méthylation du gène POLG en présence d'une mutation de l'ADNmt, ou de deux mutations du gène POLG, à l'origine d'une déplétion en ADNmt.

Pour cela, un séquençage à haut débit de l'ADN préalablement traité au bisulfite, a permis de comparer le niveau de méthylation dans des tissus postnataux témoins (n=30) et porteurs de mutation de l'ADNmt (n=31) ou de 2 mutations du gène POLG (n=18). Une étude similaire a été réalisée sur des tissus fœtaux témoins (n=39) et porteurs (n=53) d'une mutation de l'ADNmt.

Un très haut niveau de méthylation de l'exon 2 du gène POLG (94%) a été observé en période postnatale et prénatale, et ce quel que soit le stade de développement et le tissu analysé, hormis le sperme qui possède un niveau de méthylation beaucoup plus faible (80%) du gène POLG. Ce haut niveau de méthylation n'est pas modifié par la présence de différentes mutations de l'ADNmt, même à de très forts taux d'hétéroplasmie. Il n'est pas non plus modifié par la présence de 2 mutations du gène POLG, y compris dans les quatre tissus où une déplétion majeure en ADNmt a été authentifiée.

Cette étude suggère qu'au contraire des cellules cancéreuses humaines et des cellules souches embryonnaires humaines, les cellules humaines différenciées régulent leur quantité d'ADNmt indépendamment du niveau de méthylation du gène POLG. D'autres facteurs impliqués dans la stabilité du nombre de copie d'ADNmt cellulaire restent donc à identifier.

**CS09 : Excès de variants de novo dans des gènes impliqués dans le remodelage de la chromatine et la régulation de la transcription chez des patients avec habitus marfanoïde et déficience intellectuelle**

**Auteurs :**

Laurence FAIVRE (1), Fatma DAOUD (2), Yannis DUFFOURD (3), Caroline CABRET (2), Julien THEVENON (1), Elodie GAUTIER (4), Martin CHEVARIN (2), Patrick CALLIER (3), Judith ST-ONGE (2), Thibaud JOUAN (2), Paul KUENTZ (2), Didier LACOMBE (5), Sebastien MOUTTON (5), Marie-Ange DELRUE (5), Cyril GOIZET (5), Fanny MORICE-PICARD (5), Arnold MUNNICH (6), Stanislas LYONNET (6), Valérie CORMIER-DAIRE (6), Geneviève BAUJAT (6), Muriel HOLDER (7), Florence PETIT (7), Bruno LEHEUP (8), Sylvie ODENT (9), Pierre-Simon JOUK (10), Gipsy LOPEZ (10), Pierre SARDA (11), Patric COLLIGNON (12), Dominique MARTIN-COIGNARD (13), Aurélia JAQUETTE (14), Laurence PERRIN (15), Audrey PUTOUX (16), Elisabeth SARRZIN (17), Khadija AMAROF (17), Isabelle MISSOTTE (18), Christine COUBES (11), Alice MASUREL (19), Salima EL CHEHADEH (20), Nathalie MARLE (21), Frederic HUET (22), Christine BINQUET (23), Bernard ARAL (21), Gwenaelle COLLOD-BEROUD (24), Nadine HANNA (25), Catherine BOILEAU (25), Guillaume JONDEAU (25), Christel THAUVIN (1), Brian J. O'ROAK (26), Jean-Baptiste RIVIERE (3)

1. EA4271 Génétique des Anomalies du Développement; FHU TRANSLAD; Centre de Référence Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs Est, CHU Dijon, Dijon, France
2. EA4271 Génétique des Anomalies du Développement, CHU Dijon, Dijon, France
3. EA4271 Génétique des Anomalies du Développement; FHU TRANSLAD, CHU Dijon, Dijon, France
4. FHU TRANSLAD - Hôpital d'Enfants, CHU Dijon, Dijon, France
5. Centre de Référence Maladies Rares, CHU Bordeaux, Bordeaux, France
6. IHU Imagine, Département de Génétique, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France
7. Centre de Référence Maladies Rares, CHRU Lille, Lille, France
8. Centre de Référence Maladies Rares, CHU NANCY, Nancy, France
9. Centre de Référence Maladies Rares, CHU Rennes, Rennes, France
10. Centre de Référence Maladies Rares, CHU Grenoble, Grenoble, France
11. Centre de Référence Maladies Rares, CHU MONTPELLIER, Montpellier, France
12. Centre de Référence Maladies Rares, CH TOULON, TOULON, France
13. Centre de compétence Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs, CH LE MANS, LE MANS, France
14. Département de Génétique et Centre de Référence Déficiences intellectuelles de causes rares, APHP, La Pitié Salpêtrière, Paris, France
15. Centre de Référence Maladies Rares, APHP, Hôpital Robert Debré, Paris, France
16. Centre de Référence Maladies Rares, CHU Lyon, Lyon, France
17. Centre de Référence Caraïbéen des Maladies Rares Neurologiques et Neuromusculaires, CHU de Fort de France, Hôpital Pierre Zobda-Quitman, La Martinique, Fort de France, Martinique
18. Service de Pédiatrie, Centre Hospitalier Territorial, Nouvelle Calédonie, Nouvelle Calédonie, Nouvelle-Calédonie
19. FHU TRANSLAD; Centre de Référence Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs Est, CHU Dijon, Dijon, France
20. EA4271 Génétique des Anomalies du Développement; Centre de Référence Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs Est, CHU Dijon, Dijon, France
21. Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU Dijon, Dijon, France
22. FHU TRANSLAD; Service de Pédiatrie 1, CHU Dijon, Dijon, France
23. FHU TRANSLAD; INSERM CIC 1432 (CIC-EC), CHU Dijon, Dijon, France
24. INSERM UMR\_S910, Faculté de Médecine La Timone, Marseille, France
25. Centre de référence maladie de Marfan et syndromes apparentés, APHP, Hôpital Bichat, Paris, France
26. Department of Molecular & Medical Genetics, Oregon Health & Science University, Portland, Etats-Unis

**Mots clefs :** Syndromes marfanoides, déficience intellectuelle, séquençage haut débit d'exome, régulation de la chromatine, régulation de la transcription, variants de novo

**Résumé :**

Les patients avec habitus marfanoïde (HM) et déficience intellectuelle (DI) représentent un groupe génétiquement et cliniquement hétérogène. En 2013, nous avons rapporté nos résultats d'analyse de 6 gènes responsables du syndrome de Marfan et de Lujan-Fryns (MED12, ZDHHC9, UPF3B, FBN1, TGFBR1 et TGFBR2), ainsi que de CGH-array 244K à partir de 100 patients avec HM-DI. Nous avons identifié la cause génétique sous-jacente dans 20 % des sujets, comprenant 14 réarrangements chromosomiques non récurrents, 3 mutations FBN1, 1 mutation

*MED12*, et la coexistence d'une mutation *FBN1* et d'un réarrangement chromosomique chez 2 patients, suggérant une hérédité digénique pour au moins une fraction d'individus. Pour aller plus loin dans l'identification des bases moléculaires des patients avec HM-DI, nous avons proposé un séquençage de l'exome chez 32 individus, en utilisant une approche de trio pour 22 sujets, et cas index pour les 10 cas restants. L'approche par trio a été analysée en première intention, puis les solos ont été analysés en recherchant des variants rares dans les gènes OMIM, ainsi que dans les gènes au sein desquels une mutation de novo avait été identifiée chez un trio. Au total, une mutation pathogène ou probablement pathogène a été identifiée chez 56% des patients dans 14 gènes OMIM différents (18/32) (72% si les gènes candidats sont considérés). 5 gènes ont été identifiés avec une mutation de novo ou compatible avec la ségrégation familiale chez au moins 2 individus distincts, incluant 2 nouveaux gènes (*Nup205* et *ATP1A1*) et 3 gènes déjà connus dans la DI (*ARID1B*, *EHMT1*, *NFIX*, *NSD1* et *TAF1*). *NFIX* et *NSD1* sont 2 gènes majeurs des syndromes avec avance staturale, soulevant un lien entre ces 2 entités. De façon intéressante, 3/4 patients ayant une mutation dans *Nup205* and *ATP1A1* avaient aussi une mutation de novo dans un autre gène, renforçant l'hypothèse digénique. 5 autres variants ont été identifiés dans des gènes responsables de DI syndromique, bien que la présentation clinique n'avait pas permis d'en faire le diagnostic clinique (*ZEB2*, *ATRX*, *SLC16A2*, *ASXL3* et *ZBTB20*), et 4 variants dans des gènes de DI non syndromique (*CHD8*, *SCN2A*, *KCNB1*, et *SLC6A1*). Enfin, une mutation candidate a été identifiée dans 3 nouveaux gènes (*NFIB*, *ZBTB46* et *Emilin 3*). Nous avons utilisé des méthodes statistiques élégantes pour démontrer que la récurrence de mutations dans différents gènes d'une même voie ne pouvait être due au hasard. Pour cela, nous avons simulé la probabilité de trouver ces résultats à partir d'une cohorte témoin (Iossifov, et al. 2015). La probabilité de trouver plus de 3 gènes récurrents dans notre petite cohorte étant nulle ( $p < 2 \times 10^{-6}$ ), tout comme la probabilité de trouver cette fréquence de gènes impliqués dans la régulation de la chromatine ou cibles de FMRP ( $p=3.706 \cdot 10^{-5}$  et  $p=4.493 \cdot 10^{-7}$ ). Au total, nos données démontrent la valeur ajoutée d'endophénotypage de la DI pour mieux en comprendre les bases moléculaires.

**CS10 : Disomy of chromosome 20 : different phenotypes depending on parental origin**

**Auteurs :**

helene pages (1), virginie ribault (2), sandrine chantot-bastaraud (3), irene netchine (4), ghislaine plessis (5), marion gerard (5), cindy colson (5), marie-laure kottler (6), nicolas richard (6), matthieu decamp (7), celine ballandone (6), nicolas gruchy (8)

1. cherbourg, ch cotentin, cherbourg, France
2. pédiatrie, chu caen, caen, France
3. cytogénétique moléculaire, aphp armand trousseau-la roche guyon, paris, France
4. biologie moléculaire endocrinienne, aphp armand trousseau-la roche guyon, paris, France
5. génétique clinique, chu caen, caen, France
6. génétique moléculaire, chu caen, caen, France
7. cytogénétique moléculaire, chu caen, caen, France
8. cytogénétique moléculaire, chu caen, caen, France

**Mots clefs :** GNAS locus, sporadic PHP1b, growth failure, maternal uniparental disomy, paternal uniparental disomy, chromosome 20

**Résumé :**

Uniparental disomy (UPD), a nonmendelian form of inheritance, is when both copies of a chromosome are inherited from one parent only. *GNAS* locus, located at 20q13.2-13.3, is an imprinted locus associated with methylation changes at one or several differentially methylated regions (DMRs) dependent on an imprinting center localized within *STX16* locus. Loss-of-function mutations are associated to pseudohypoparathyroidism Ia (PHP-Ia) when located on the maternal allele and, POH and severe IUGR when located on paternal allele. In addition, maternal methylation defects in the *GNAS* cluster (epimutation) resulted in pseudohypoparathyroidism Ib (PHP-Ib). There are two forms of PHP-Ib. The familial form is associated to an isolated loss of methylation at the A/B DMR, secondary to deletion in the *STX16* gene. The sporadic form is associated with *GNAS* diffuse imprinting defects which mimic the paternal-specific methylation pattern. Thus, paternal UPD of chromosome 20 (UPD(20)pat) is a plausible cause of PHP-Ib.

We used CGH+SNP-array or SNP-array to assess UPD(20) in a cohort of 32 patients presenting sporadic PHP-Ib and a boy with intrauterine and postnatal growth restriction.

We found 5 patients (16%) with UPD(20)pat : 4 complete and 1 of the long arm of chromosome 20. These patients exhibited a specific methylation pattern, that identify a subset of 24 patients in whom the frequency of UPD(20)pat is high (21%).

We also describe UPD(20)mat indicating that patients with early-onset idiopathic isolated growth failure should be screened for UPD(20)mat. Frequency of UPD(20)mat in this disorder requires further investigations.

**CS11 : Impact des facteurs de la reproduction sur l'association entre les gènes de la régulation des œstrogènes et le risque de cancer du sein : une stratégie pour l'étude GENESIS.**

**Auteurs :**

Juliette COIGNARD (1), Christine LONJOU (1), Marie-Gabrielle DONDON (1), Séverine EON-MARCHAIS (1), Francesca DAMIOLA (2), Laure BARJHOUX (2), Morgane MARCOU (1), Carole VERNY-PIERRE (2), Valérie SORNIN (2), Lucie TOULEMONDE (1), Juana BEAUVALET (1), Dorothée LE GAL (1), Noura MEBIROUK (1), Muriel BELOTTI (3), Olivier CARON (4), Marion GAUTHIER-VILLARS (3), Isabelle COUPIER (5), Bruno BUECHER (3), Alain LORTHOLARY (6), Catherine DUGAST (7), Paul GESTA (8), Jean-Pierre FRICKER (9), Catherine NOGUES (10), Laurence FAIVRE (11), Elisabeth LUPORSI (12), Pascaline BERTHET (13), Capucine DELNATTE (14), Valérie BONADONA (15), Christine MAUGARD (16), Pascal PUJOL (17), Christine LASSET (15), Michel LONGY (18), Yves-Jean BIGNON (19), Claude ADENIS (20), Laurence VENAT-BOUVET (21), Liliane DEMANGE (22), Hélène DREYFUS (23), Marc FRENAY (24), Laurence GLADIEFF (25), Isabelle MORTEMOUSQUE (26), Séverine AUDEBERT-BELLANGER (27), Florent SOUBRIER (28), Sophie GIRAUD (29), Sophie LEJEUNE-DUMOULIN (30), Annie CHEVRIER (31), Jean-Marc LIMACHER (32), Jean CHIESA (33), Anne FAJAC (34), Anne FLOQUET (18), François ESINGER (35), Julie TINAT (36), Chrystelle COLAS (37), Sandra FERT-FERRER (38), Clotilde PENET (39), Thierry FREBOURG (36), Marie-Agnès COLLONGE-RAME (40), Emmanuelle BAROUK-SIMONET (18), Valérie LAYET (41), Dominique LEROUX (42), Odile COHEN-HAGUENAUER (43), Fabienne PRIEUR (44), Emmanuelle MOURET-FOURME (10), François CORNELIS (45), Philippe JONVEAUX (46), Odile BERA (47), Eve CAVACIUTI (1), Sylvie MAZOYER (2), Olga M. SINILNIKOVA (2), Fabienne LESUEUR (1), Dominique STOPPA-LYONNET (48), Nadine ANDRIEU (1)

1. , INSERM U900, Institut Curie, Mlnes ParisTech, Paris, France
2. Cancer Reasearch Centre of Lyon, CNRS UMR5286, Inserm U1052, Université Claude Bernard Lyon 1, Centre Léon Bérard, Lyon, France
3. Service de Génétique, Institut Curie, Paris, France
4. Service d'Oncologie Génétique, Institut de Cancérologie Gustave Roussy, Villejuif, France
5. Service de Génétique médicale et Oncogénétique , Hôpital Arnaud de Villeneuve, CHU Montpellier, Montpellier, France
6. Service d'Oncologie Médicale, Centre Catherine de Sienne, Nantes, France
7. Array, Array, Array,
8. Service Oncogénétique pour la consultation oncogénétique régionale Poitou-Charentes, CH Georges Renon, Niort, France
9. Unité d'Oncologie, Centre Paul Strauss, Strasbourg, France
10. , Institut Curie, Hopital René Huguenin, Saint-Cloud, France
11. Service de Génétique Médicale , Hôpital d'Enfants, Dljon, France
12. Unité d'Oncogénétique, ICL Alexis Vautrin, Vandoeuvre-lès-Nancy, France
13. Unité de Pathologie Gynécologique, Centre François Baclesse, Caen, France
14. Unité d'Oncogénétique, Centre René Gauducheau, Nantes Saint Herblain, France
15. Unité de Prévention et Epidémiologie Génétique, Université Claude Bernard Lyon 1, CNRS UMR 5558, Centre Léon Bérard, Lyon, France
16. UF1422 Oncogénétique moléculaire, Laboratoire de diagnostic génétique, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
17. Service de Génétique médicale et Oncogénétique, Hôpital Arnaud de Villeneuve, CHU Montpellier, Montpellier, France
18. , Institut Bergonié, Bordeaux, France
19. , Centre Jean-Perrin, Clermont-Ferrand, France
20. , Centre Oscar-Lambret, Lille, France
21. Service d'Oncologie Médicale, Hôpital Universitaire Dupuytren, Limoges, France
22. , Polyclinique Courlancy, Reims, France
23. , Clinique Sainte Catherine , Avignon, France
24. Unité d'Oncogénétique, Centre Antoise Lacassagne , Nice, France
25. Service d'Oncologie Médicale, Institut Claudius Regaud - IUCT-Oncopole , Toulouse, France
26. Service de Génétique, Hôpital Bretonneau, Tours, France
27. Département de génétique médicale en pédiatrie, CHU Brest, Hôpital Morvan, Brest, France
28. , Hôpital Tenon , Paris, France
29. Service de Génétique Moléculaire, Hôpital Edouard Herriot , Lyon, France
30. Service de Génétique Clinique Guy Fontaine , Hôpital Jean de Flandre, Lille , France
31. Département de génétique, Hôpital Universitaire de Rouen , Rouen, France
32. Service d'Onco-hématologie , Hôpital Pasteur, Colmar, France

33. , CHRU Hôpital Caremeau, Nimes, France
34. Service d'Oncogénétique, Hôpital Tenon, Paris, France
35. Département d'Anticipation et de Suivi des Cancers, IPC, INSERM UMR 912, Marseille, France
36. Département de génétique, Hôpital Universitaire de Rouen, Rouen, France
37. Département de génétique, APHP, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France
38. , Centre Hospitalier de Chambéry, Chambéry, France
39. , Institut Jean-Godinot, Reims, France
40. Service de Génétique et Biologie du Développement - Histologie, CHU Hôpital Saint-Jacques, Besançon , France
41. , Hôpital Flaubert, Le Havre, France
42. Département de génétique, CHU de Grenoble, Hôpital Couple-Enfant, Grenoble, France
43. , Hôpital Saint-Louis, Paris, France
44. Service de Génétique, CHU Saint-Etienne, Hôpital Nord, Saint Etienne, France
45. Centre Viggo-Petersen, Hôpital Lariboisière, Paris, France
46. Laboratoire de génétique, CHU Hôpital de Brabois, Vandoeuvre-lès-Nancy, France
47. Unité d'Oncogénétique, CHU de Martinique, Fort-de-France, France
48. Service de Génétique, Institut Curie, INSERM U830, Université Paris-Descartes , Paris, France

**Mots clefs :** Cancer du sein, Epidémiologie, Interaction gène-environnement, Etude cas-témoin, SNP

### **Résumé :**

Moins de 20% des patientes atteintes de cancer du sein (CS) survenant dans un contexte familial présentent une mutation dans les gènes BRCA1 ou BRCA2. Des mutations monoalléliques dans TP53, PTEN, STK11 et CDH1 sont également associées à un risque de CS. Celles-ci expliqueraient 5% des formes familiales de CS. Enfin, 5% supplémentaires sont attribués à des gènes à pénétrance dite "modérée" comme les gènes ATM, CHEK2, etc. et à certains gènes impliqués dans la maladie de Fanconi (PALB2, BRIP1). Des études d'association dans la population générale ont permis d'identifier des SNPs dans 94 loci. Leur effet est cependant faible (OR < 1,2) et ils n'expliqueraient que 14% du risque familial. La majorité des formes familiales de CS reste ainsi inexpliquée. Nous faisons l'hypothèse que les expositions "environnementales" et le style de vie de chaque femme pourraient interagir avec différents gènes et modifier leur implication dans le risque de CS. Afin de le vérifier, nous proposons d'utiliser une approche combinée "gènes et expositions candidats". 2588 femmes d'origine caucasienne de l'étude GENESIS dont 1304 cas de CS, ont été incluses dans l'analyse. Elles ont chacune complété un questionnaire détaillé sur leur style de vie, leur vie reproductive, leurs antécédents médicaux, etc. et ont été génotypées avec la puce à ADN iCOGS (technologie Illumina), développée dans le cadre du projet COGS (Collaborative Oncological Gene-environment Study) (GENESIS-iCOGS). Cette étude implique les centres de génétique clinique du Groupe Génétique et Cancer d'Unicancer. Nous avons analysé simultanément les SNPs localisés dans les 100 gènes de la voie principale de régulation des œstrogènes (base de données KEGG) et une sélection de facteurs de la reproduction comme l'âge aux premières règles, le nombre de grossesses menées à terme (GMT) et le statut ménopausique. Une imputation des SNPs manquants a été effectuée à l'aide des logiciels SHAPEIT v2 et IMPUTE2 v2.3.2 pour les gènes étudiés. Un total de 60 113 SNPs dont 57 141 SNPs imputés ont été analysés. Des modèles de régression logistique univariés (PLINK 1.9) et multivariés (Stata IC 13) ont permis d'estimer les risques relatifs de CS. Les SNPs ont été analysés individuellement et regroupés en cluster en fonction de leur localisation et de l'estimation ponctuelle du risque de CS. L'analyse de ces gènes a permis d'identifier deux SNPs associés au CS, l'un, génotypé, se trouvant dans le gène HSPA1L et l'autre, imputé, dans le gène KCNJ6. L'âge aux premières règles, l'âge à la première GMT et le nombre de GMT ne semblent pas avoir le même effet dans la population à haut risque GENESIS que dans la population témoin. L'analyse simultanée des facteurs gynéco-obstétriques et génétiques ne modifie pas les estimations du risque de CS.

Ce travail nous a permis de mettre au point une stratégie d'analyse que nous allons étendre à d'autres voies de régulation en prenant en compte l'ensemble des facteurs potentiellement modificateurs.

**CS12 : Truncating Mutations of *MAGEL2*, a Gene within the Prader-Willi Locus, Are Responsible for Severe Arthrogyposis**

**Auteurs :**

J Melki (1), Dan Mejlachowicz (2), J Maluenda (2), f Nolent (3), h Ranjatoelina-Randrianaivo (4), F Giuliano (5), A Laquerriere (6)

1. , , Le Kremlin Bicetre, France
2. , , Bicêtre, France
3. , , bICETRE, France
4. , , Reunion, Réunion
5. , , nice, France
6. , , Rouen, France

**Mots clefs :** Arthrogyposis, Prader-Willi Locus, imprinting, *MAGEL2*, development

**Résumé :**

**Truncating Mutations of *MAGEL2*, a Gene within the Prader-Willi Locus, Are Responsible for Severe Arthrogyposis**

D Mejlachowicz<sup>1</sup>, F Nolent<sup>1</sup>, J Maluenda<sup>1</sup>, H Ranjatoelina-Randrianaivo<sup>2</sup>, F Giuliano<sup>3</sup>, A Benachi<sup>1,4</sup>, J Martinovic<sup>5</sup>, M Irabe<sup>3</sup>, Y Touret<sup>3</sup>, C Desveaux<sup>3</sup>, I Gut<sup>6</sup>, D Sternberg<sup>7</sup>, A Laquerriere<sup>8</sup> and J Melki<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Unité Mixte de recherche (UMR)-1169, Inserm and University of Paris-Saclay, Le Kremlin Bicêtre. <sup>2</sup>Medical Genetic Unit, South University Hospital, St Pierre-La Réunion. <sup>3</sup>Reference Center of Developmental Anomalies and Malformations, University Hospital of Nice, Nice. <sup>4</sup>Service de Gynécologie Obstétrique, University of Paris South, Clamart. <sup>5</sup>Unité de Foetopathologie, University of Paris South, Clamart. <sup>6</sup>Centro Nacional de Análisis Genómico, Barcelona, Spain. <sup>7</sup>Service de Biochimie Métabolique and UMR 1127-7225, Hôpitaux Universitaires Pitié-Salpêtrière, Paris. <sup>8</sup>Pathology Laboratory and NeoVasc Region-Inserm Team ERI28, Institute of Research for Innovation in Biomedicine, University of Rouen, Rouen.

Arthrogyposis multiplex congenita (AMC) is characterized by the presence of multiple joint contractures resulting from reduced or absent fetal movement. Here, we report two unrelated families affected by lethal AMC. By genetic mapping and whole-exome sequencing in a multiplex family, a heterozygous truncating *MAGEL2* mutation leading to frameshift and a premature stop codon (c.1996delC, p.Gln666Serfs\*36) and inherited from the father was identified in the probands. In another family, a distinct heterozygous truncating mutation leading to frameshift (c.2118delT, p.Leu708Trpfs\*7) and occurring de novo on the paternal allele of *MAGEL2* was identified in the affected individual. In both families, RNA analysis identified the mutated paternal *MAGEL2* transcripts only in affected individuals. Exome sequencing targeted to AMC genes including *MAGEL2* allowed identifying additional families. *MAGEL2* is one of the paternally expressed genes within the Prader-Willi syndrome (PWS) locus. PWS is associated with, to varying extents, reduced fetal mobility, severe infantile hypotonia, childhood-onset obesity, hypogonadism, and intellectual disability. *MAGEL2* mutations have been recently reported in affected individuals with features resembling PWS and called Schaaf-Yang syndrome. Here, we show that paternal *MAGEL2* mutations are also responsible for arthrogyposis associated with reduced fetal mobility and microretrognathia, recapitulating the clinical spectrum of PWS and suggesting that *MAGEL2* is a PWS-determining gene.

Supported by the national PHRC, AFM, Alliance Arthrogypose, Université Paris-Saclay and Inserm

---

# COMMUNICATIONS ORALES SIMULTANÉES

SESSION SIMULTANÉE 3 : CNVS ET EXPLORATION DU GÉNOME

---

**CS13 : Caractérisation des interruptions du gène TCF4 : un phénotype atténué de déficience intellectuelle syndromique associé à la partie proximale du gène ?**

**Auteurs :**

Linda Pons (1), Matthew Lines (2), Flavie Diguët (1), Pierre-Antoine Rollat Farnier (1), Damien Sanlaville (1), Caroline Schluth Bolard (1)

1. Service de Génétique, Laboratoire de Cytogénétique Constitutionnelle, Centre de Biologie et de Pathologie Est, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
2. Division of Metabolics, Children's Hospital of Eastern Ontario, Ontario, Canada

**Mots clefs :** TCF4, Pitt Hopkins, déficience intellectuelle, interruption

**Résumé :**

Le syndrome de Pitt Hopkins (MIM 610954) est un syndrome rare associant une déficience intellectuelle sévère sans régression, des traits autistiques, une dysmorphie faciale caractéristique et des accès d'hyperventilation. Ce syndrome est dû à des anomalies du gène *TCF4*, localisé en 18q21.1 (MIM 602272). La protéine TCF4 est un facteur de régulation de la transcription de la famille des E-protéines.

Parmi les quelques centaines de cas connus, le phénotype, toujours sévère, est aussi bien dû à des mutations dans la région critique du gène, de l'exon 6 à l'exon 19, qu'à des délétions plus larges, en faveur d'un mécanisme d'haploinsuffisance de *TCF4*. Aucune mutation n'a été décrite en amont de l'exon 2.

Nous rapportons ici le cas d'une interruption du gène *TCF4* dans sa partie proximale chez une patiente de 8 ans présentant une déficience intellectuelle syndromique modérée. En effet, la marche a été acquise à l'âge de 18 mois, le langage oral s'est progressivement mis en place à partir de l'âge de 3 ans et la patiente peut maintenant écrire son nom. La croissance est normale, sans microcéphalie. On note quelques traits autistiques, des troubles du sommeil et une constipation. Il n'y a pas de dysmorphie particulière, ni d'anomalies respiratoires.

Le caryotype montre une inversion péricentrique équilibrée *de novo* 46,XX,inv(18)(p11.2;q21.1). L'analyse chromosomique sur puce à ADN est normale. La caractérisation moléculaire de ce remaniement chromosomique par séquençage haut débit sur un NextSeq500 (Illumina) a identifié 2 points de cassure, vérifiés en FISH, PCR et Sanger, aux positions chr18:1,262,333-1,262,334 en 18p11.32 et chr18:53,254,750-53,254,751 en 18q21.2. Ce dernier point de cassure interrompt l'intron 1 de *TCF4* dans sa séquence 5' non codante, faisant supposer l'expression d'une protéine TCF4 intacte mais en quantité diminuée.

Par ailleurs, 5 autres cas d'interruption de *TCF4* ont été rapportés à ce jour. Quatre d'entre eux s'associent à un phénotype sévère de Pitt Hopkins et à des interruptions toutes situées en aval de l'exon 6. A l'opposé, la patiente rapportée par Kalscheuer et al (2008), présente une déficience intellectuelle modérée, sans traits autistiques, ni dysmorphie, ni anomalies respiratoires. Elle est porteuse d'une translocation équilibrée *de novo* 46,XX,t(18;20)(q21.1;q11.2), caractérisée en FISH et interrompant l'intron 3 de *TCF4*, aboutissant à la formation d'un transcrit chimère et donc probablement d'une protéine TCF4 résiduelle.

Ces 2 cas similaires semblent indiquer que les altérations moléculaires de la région proximale de *TCF4*, de l'exon 1 à l'exon 4, s'accompagneraient de la présence d'une protéine TCF4 résiduelle et donc d'un phénotype très atténué de déficience intellectuelle syndromique, par rapport au tableau classique du syndrome de Pitt Hopkins.

**CS14 : Récurrence d'une microdélétion 2q33.1 (SATB2 associated syndrome) secondaire à un mosaïcisme maternel**

**Auteurs :**

Chantal Missirian (1), Anaïs Samonini (1), Nicole PHILIP-SARLES (1), Sabine Sigaudy (1), Tiffany Busa (2), Emilie Alazard (2), Brigitte Chabrol (3), Mathieu Milh (3)

1. Département de génétique, Timone Enfant , Marseille, France
2. Département de génétique, Timone Enfant , marseille, France
3. neuropédiatrie, Timone Enfant , marseille, France

**Mots clefs :** SAS Syndrome, microdélétion, 2q22.1, mosaïcisme, maternel

**Résumé :**

Le SAS syndrome (SATB2 associated syndrome) est une entité clinico-biologique de description récente caractérisé par une quasi absence de langage contrastant avec une compréhension relativement conservée, une dysmorphie craniofaciale (micrognathie, fente palatine ou palais ogival, malposition dentaire) et des troubles du comportement. Il est secondaire à l'haploinsuffisance du gène SATB2 (mutations ponctuelles, délétions intragéniques, translocations) codant pour un facteur de transcription.

Nous rapportons l'observation d'une fratrie de 5 enfants dont seuls les garçons présentent un trouble de développement pour lequel une pathologie récessive liée au chromosome X était initialement envisagée.

Ces trois garçons issus de parents en bonne santé, non consanguins, sans antécédents familiaux, présentent une atteinte sévère de langage mais une compréhension conservée pour les ordres simples, sans retard moteur associé. L'examen clinique retrouve essentiellement une dysmorphie craniofaciale commune: une face triangulaire, un nez volumineux, un microrétrognathisme, une lèvre inférieure éversée.

L'analyse chromosomique sur puce à ADN réalisée chez l'un des garçons met en évidence à l'état homogène une microdélétion intragénique d'environ 121 kb du gène SATB2 localisée en 2q33.1. Ce microremaniement chromosomique sera secondairement identifié chez les frères atteints. La récurrence de ce CNV suggère la présence d'une mosaïque germinale chez l'un des deux parents, mécanisme physiopathologique connu pour les mutations ponctuelles mais plus rarement décrit pour les remaniements chromosomiques de structure déséquilibrés. En effet, les mosaïques chromosomiques parentales sont probablement sous estimées en raison de leur difficulté de mise en évidence (faible pourcentage de mosaïcisme, sensibilité de la technique utilisée, tissu analysé). L'enquête familiale réalisée par différentes techniques conduira à l'identification chez la mère asymptomatique d'une mosaïque somatique faible, dans les limites de détection, pour cette variation du nombre de copie.

**CS15 : Impacts de l'Array Painting et du Whole Genome Sequencing en diagnostic cytogénétique : d'un réarrangement chromosomique complexe à un chromothripsis**

**Auteurs :**

Anouck Schneider (1), Patricia Blanchet (2), Pauline Bouret (1), Mélanie Di Nicola (1), David Genevieve (3), Bee Ling Ng (4), Wigard Kloosterman (5), Jacques Puechberty (3), Franck Pellestor (1)

1. Laboratoire de Génétique Chromosomique, CHRU Arnaud De Villeneuve, Montpellier, France
2. Département de Génétique Médicale, CHRU Arnaud De Villeneuve, Montpellier, France
3. Département de Génétique Médicale, CHRU Arnaud De Villeneuve, Montpellier, France
4. Cytometry Core Facility, The Wellcome Trust Sanger Institute, Wellcome Trust Genome Campus, Hinxton - Cambridge, Royaume Uni
5. Center for Molecular Medicine, University Medical Center Utrecht, Department of Medical Genetics, Utrecht, Pays-Bas

**Mots clefs :** Array-Painting, Whole Genome Sequencing, chromothripsis

**Résumé :**

Les réarrangements chromosomiques complexes (RCC) sont définis comme des anomalies structurales symétriques ou asymétriques de chromosomes avec, au moins 3 points de cassure sur 2 chromosomes différents. Les RCC sont rarement décrits en cytogénétique constitutionnelle et correspondent généralement à des associations de translocations.

Nous rapportons le cas d'un patient atteint d'une déficience intellectuelle précoce associée, à une absence de langage, une hypotonie et un retard postural malgré une bonne compréhension et une bonne autonomie motrice. Le caryotype a révélé une translocation *de novo* complexe impliquant trois chromosomes : 46,XY,t(3;15;5)(p11;?q2 5;q23)dn.

Afin de mieux caractériser ce RCC, nous avons utilisée diverses techniques telles que la FISH, l'Array-Painting et le Whole Genome Sequencing. Ces différentes approches ont conduit à l'identification d'un réarrangement bien plus complexe et massif du génome qui peut être classé comme un *chromothripsis*. Ces réarrangements chromosomiques complexes se produisent au cours d'un seul évènement catastrophique, sous forme de multiples cassures double-brin restreints à une région chromosomique, entraînant une pulvérisation en fragments chromosomiques. La plupart sont réorganisés de manière aléatoire afin de reformer une structure chromosomique stable (chromosome dérivé).

L'étude de ce patient confirme la complexité des mécanismes dans la genèse du RCC et par conséquent le diagnostic de *chromothripsis*. Ainsi, la mise en œuvre de nouvelles techniques a bouleversé nos connaissances avec la découverte de phénomènes imprévus tel que le *chromothripsis*. Cette étude nous permet de souligner les difficultés d'interprétation de ces technologies, notamment le Whole Genome Sequencing, et l'importance du rôle de la FISH encore à l'heure actuelle.

**CS16 : Détection combinée de variations de nombre de copies et de variants nucléotidiques par OneSeq : une alternative au whole genome sequencing ?**

**Auteurs :**

Valérie MALAN (1), Nicolas CHATRON (2), Marc LE LORC'H (3), Eudeline ALIX (2), Matthieu Egloff (3), Didier GOIDIN (4), Jean-Philippe JAÏS (5), Serge ROMANA (3), Damien SANLAVILLE (6)

1. Service d'histologie, embryologie et cytogénétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, UMR\_S1163, Institut Imagine, Université Paris Descartes, Paris, France
2. Laboratoire de Cytogénétique Constitutionnelle, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
3. Service d'histologie, embryologie et cytogénétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
4. Agilent Technologies, Les Ulis, France
5. Service de biostatistique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
6. Laboratoire de Cytogénétique Constitutionnelle, Hospices Civils de Lyon, Equipe TIGER, CRNL, UCBL1, INSERM U1028, CNRS UMR 5292, Lyon, France

**Mots clefs :** OneSeq, NGS, CNV, SNV

**Résumé :**

**Détection combinée de variations de nombre de copies et de variants nucléotidiques par OneSeq : une alternative au whole genome sequencing ?**

Nicolas Chatron<sup>1,2</sup>, Marc Le Lorc'h<sup>3</sup>, Eudeline Alix<sup>1</sup>, Matthieu Egloff<sup>3</sup>, Didier Goidin<sup>4</sup>, Jean-Philippe Jaïs<sup>5</sup>, Serge Romana<sup>3</sup>, Damien Sanlaville<sup>1,2</sup>, Valérie Malan<sup>3,6</sup>

1. Laboratoire de Cytogénétique Constitutionnelle, Hospices Civils de Lyon
2. Equipe TIGER, CRNL, UCBL1, U1028 INSERM, UMR 5292 CNRS, Lyon
3. Service d'histologie, embryologie et cytogénétique, Hôpital Necker Enfants Malades
4. Agilent Technologies
5. Service de biostatistique, Hôpital Necker Enfants Malades
6. UMR\_S1163, Institut Imagine, Université Paris Descartes

La détection de variation du nombre de copie (CNV) est aujourd'hui un point critique dans l'analyse de données de séquençage à haut débit (Next Generation Sequencing, NGS). Ainsi, une analyse chromosomique sur puce à ADN précède généralement le séquençage de panels de gènes ou d'exome en l'absence d'orientation diagnostique en cas de déficience intellectuelle.

Nous avons testé un nouveau design NGS combinant deux séries de sondes : l'une ciblant l'exome à la recherche de variants nucléotidiques et l'autre répartie uniformément sur le génome utile à la détection de variation du nombre de copie avec une résolution théorique de 300 kilobases (OneSeq, Agilent Technologies). La capture des régions à séquençer a été réalisée selon le protocole du fournisseur (SureSelect<sup>XT</sup>, Agilent). Nous avons inclus dans notre étude 30 patients et deux témoins (nécessaires à l'algorithme de calcul) qui ont été séquencés sur deux plateformes Illumina (HiSeq1500 et NextSeq500, paired-end sequencing 2x100pb et 2x75pb respectivement). Sept patients étaient porteurs de CNVs pathogènes de moins de 300 kb et 21 de CNVs de plus de 300 kb. Parmi ces patients, onze étaient également porteurs d'un variant nucléotidique identifié par séquençage Sanger, panel ou exome. Les données ont été analysées avec le logiciel SureCall (Agilent Technologies) avec les paramètres par défaut prévus pour ce kit. La profondeur moyenne obtenue était de 145x et 97% des cibles étaient couvertes par au moins 20 lectures. L'analyse des 30 patients a permis de confirmer la résolution de 300 kb pour les CNVs. Les variants nucléotidiques connus et non retrouvés par la technique utilisée n'étaient pas ou insuffisamment couverts. Si les aspects techniques ont été rapides à maîtriser, les paramètres bioinformatiques concernant l'appel des variants (CNVs et SNVs) restent encore à ajuster. L'ajout à ce design d'un panel de gènes à façon est une possibilité intéressante.

Hormis la détection de variants structuraux, cette stratégie se place en alternative au séquençage *whole genome* en combinant en une seule technique l'analyse chromosomique sur puce à ADN et le séquençage d'exome. Ce type d'approche constituera un bouleversement des pratiques dans les laboratoires hospitaliers de génétique moléculaire et de cytogénétique.

Mots-clés : OneSeq, NGS, CNV, SNV

**CS17 : Utilisation de l'analyse chromosomique par puce à ADN (ACPA) dans le bilan étiologique génétique des femmes présentant une insuffisance ovarienne prématurée (IOP)**

**Auteurs :**

Sylvie Jaillard (1), Linda Akloul (2), Martine Blayau (3), Vincent Jauffret (1), Sylvie Odent (2), Jean Leveque (4), Marc-Antoine Belaud-Rotureau (1), Célia Ravel (5)

1. Service de Cytogénétique et Biologie Cellulaire, CHU Rennes, Rennes, France
2. Service de Génétique Clinique, CHU Rennes, Rennes, France
3. Service de Génétique Moléculaire, CHU Rennes, Rennes, France
4. Service de Gynécologie-Obstétrique, CHU Rennes, Rennes, France
5. Service de Biologie de la Reproduction, CHU Rennes, Rennes, France

**Mots clefs :** analyse chromosomique par puce à ADN, insuffisance ovarienne prématurée, gènes candidats

**Résumé :**

L'insuffisance ovarienne prématurée (IOP) est caractérisée par une absence ou un arrêt de la fonction ovarienne normale avant l'âge de 40 ans. Elle peut se manifester par une absence de développement pubertaire, une aménorrhée primaire ou secondaire ou par une ménopause précoce. La prévalence de l'IOP chez les femmes de moins de 40 ans est estimée à 0,1 à 1,4%. Les étiologies les plus connues sont les causes auto-immunes, iatrogènes, virales ou génétiques. Ces dernières incluent les anomalies du chromosome X (monosomie X, anomalies de structure du chromosome X) et les anomalies des autosomes (implication de gènes responsables de formes non syndromiques ou syndromiques d'IOP). Mais à ce jour, de nombreux cas d'IOP restent inexplicables. Depuis 2009, quelques études se sont intéressées à l'utilisation de l'analyse chromosomique par puce à ADN (ACPA) chez des patientes présentant une IOP. Des variants impliquant de nouveaux gènes candidats pour l'IOP ont ainsi été identifiés. Ces gènes ont été retenus comme gènes d'intérêt en raison de leur rôle connu dans la reproduction (dyskinésie ciliaire primitive : *DNAH5*; folliculogénèse : *AKT1*, *IMMP2L*, *FER1L6*, *MEIG1*), dans la méiose (*PLCB1*, *RB1CC1*, *MAP4K4*) ou dans la réparation de l'ADN (*RBBP8*). Des variants impliquant des gènes connus d'IOP ont également été mis en évidence. Néanmoins, l'ACPA n'est pas encore appliquée en routine chez les patientes présentant une IOP et les variants pathogènes responsables d'IOP ne sont donc pas formellement identifiés.

Nous avons analysé par ACPA 60 patientes présentant une IOP afin d'identifier des régions génomiques associées à la survenue d'une IOP. Des variants impliquant des gènes déjà suspectés comme étant associés à la survenue d'une IOP dans de précédentes études (*CSMD1*) ou de nouveaux gènes candidats pour le phénotype observé ont été mis en évidence. Parmi ces derniers, les gènes sont notamment impliqués dans la division cellulaire (*CLASP1*, *CENP-A*, *CDC16*) ou dans le développement ou la fonction ciliaire (*RSPH1*, *KIF24*) ou sont fortement exprimés dans l'appareil génital féminin (*KIAA1324*). Chez 3 patientes, un variant au niveau de la région 22q11.21 a été observé : une duplication de 3 Mb (LCR22-A / LCR22-C), une duplication et une délétion de 1,4 Mb (LCR22-A / LCR22-B).

Ces données montrent l'intérêt de la réalisation de l'ACPA dans le bilan étiologique génétique des IOP. Les variations du nombre de copies d'ADN mises en évidence ont des retombées diagnostiques en cas d'implication de gènes gonadiques connus ou de leur région régulatrice ou des retombées plus fondamentales en cas d'identification de nouveaux gènes candidats pour le développement gonadique ou la physiopathologie ovarienne. Au final, une prise en charge optimale pourra être proposée aux patientes atteintes d'IOP ainsi qu'à leurs apparentées (actions de préservation de fertilité).

**CS18 : Etude multicentrique française des relations génotype - phénotype chez 77 patients porteurs de remaniements 22q13.3**

**Auteurs :**

Anne-Claude Tabet (1), Marie Ducloy (2), Julien Buratti (2), Alexandre Mathieu (2), Boris Keren (3), Eva Pipiras (4), Sandra Chantot-Bastaraud (5), Cedric Lecaigec (6), Jean Michel Dupont (7), Stephan Kemeny (8), Anne-Laure Mosca-Boiron (9), Chantal Missirian (10), Damien Sanlaville (11), Gaëlle Vieville (12), Marie-Laure Vuillaume (13), Richard Delorme (14), Thomas Bourgeron (15)

1. UF de cytogénétique-Département de génétique, Hôpital Robert Debré-, Unité GHFC-Institut Pasteur, paris, France
2. Unité GHFC, département de neurosciences, Institut Pasteur, paris, France
3. génétique chromosomique, Hôpital Pitié Salpêtrière, paris, France
4. Service d'Histologie-Embryologie et Cytogénétique, Biologie de la Reproduction,, Hôpital Jean Verdier (AP-HP), Bondy, France
5. Laboratoire de Cytogénétique, Hôpital Trousseau, paris, France
6. Génétique médical, Hôpital de Nantes, Nantes, France
7. Laboratoire de Cytogénétique, Hôpital Cochin, paris, France
8. Service de cytogénétique médicale, CHU Estaing, Clermont Ferrand , France
9. Laboratoire de Cytogénétique, Hôpital de Dijon, Dijon, France
10. Laboratoire de génétique chromosomique, CHU Timone enfants , Marseille, France
11. Service de génétique, CHU de Lyon HCL - GH Est - Hôpital Femme Mère Enfant, Lyon, France
12. Unité de génétique chromosomique, Hôpital Couple - Enfant CHU de Grenoble, Grenoble, France
13. Laboratoire de Génétique Moléculaire, Hôpital Pellegrin, Bordeaux, France
14. Département de psychopathologie de l'enfant et de l'adolescent, Hopital Robert Debré, Unité GHFC-Institut Pasteur, paris, France
15. Unité GHFC, département de neurosciences, Institut Pasteur, Paris, France

**Mots clefs :** SHANK3, Phelan Mc Dermid, Autisme, CNV

**Résumé :**

Le syndrome de Phelan Mc Dermid (aussi connu sous le nom de délétion 22q13.3) est caractérisé par une déficience intellectuelle (DI), des troubles du langage et un autisme. Le gène *SHANK3* codant pour une protéine d'échafaudage de la région post synaptique des synapses glutamatergiques serait responsable de la plupart des troubles neurodéveloppementaux observés. La taille des segments délétés et le mécanisme de survenu des anomalies sont très variables et la corrélation génotype-phénotype n'est pas précise. En particulier, l'association avec l'autisme varie d'une étude à l'autre. Notre étude multicentrique française réalisée via le réseau « Achropuce » a pour but d'identifier les patients avec remaniement 22q13.3, de préciser les relations génotype-phénotype et de montrer l'existence de facteurs modificateurs éventuels.

Nous rapportons les données génétiques et cliniques de 77 patients présentant un CNV impliquant le gène *SHANK3* (plus grande cohorte décrite en Europe) : 52 % de filles, 47% de garçons et 1 fœtus. Pour 72 patients, on observe une délétion qui dans 13 cas, est associée à une duplication terminale d'un autre segment chromosomique du fait d'un déséquilibre de translocation. La taille des délétions varie de 45,8 kb à 9,10 Mb. Pour 5 patients, on observe une duplication de la région 22q13.3, survenue *de novo* (deux cas dont un en mosaïque), héritée (1 cas) ou de transmission inconnue. La taille des duplications varie de 96 kb à 5,5 Mb. La prévalence des remaniements 22q13.3 varie de 0,2 % à plus de 1%, taux similaire à celui déjà rapporté.

Sur l'ensemble des patients présentant une délétion, 20 (43 %) sont décrits comme ayant des traits autistiques alors que 26 n'en n'auraient pas. L'item n'est pas renseigné pour les autres. Toutefois, le diagnostic de TSA n'est souvent que clinique. Si l'efficiency intellectuelle semble conservée dans certains cas (2,5 %), l'atteinte du langage est constante. Certains patients présentent un phénotype clinique très sévère, qui n'est pas corrélé à la taille de la délétion. Le suivi à long terme d'au moins deux patients est marqué par une régression des apprentissages à l'âge adulte et une aggravation des troubles psychiatriques. Concernant les patients porteurs d'une duplication, deux sont atteints de TSA, tous semblent présenter un phénotype moins sévère.

De façon intéressante, 2 patients porteurs d'une délétion 22q13.3 présentent aussi un microremaniement 16p11.2 impliqué dans les TSA la DI et l'obésité. Ces deux patients ne sont pas atteints de TSA et la DI est modérée.

Ce projet pilote va permettre de mieux comprendre les relations génotypes-phénotypes et d'initier de nouvelles études pour identifier des facteurs modificateurs de la sévérité du trouble. Nous discuterons des données génétiques (dont l'étude des « *second hits* ») et cliniques de notre cohorte et des limites de leur interprétation. La prudence dans l'utilisation des données de la littérature sera également discutée.

---

# COMMUNICATIONS ORALES SIMULTANÉES

SESSION SIMULTANÉE 4: ONCOGÉNÉTIQUE

---

**CS19 : Néoplasie endocrinienne multiple de type 2 (NEM2): Dix ans d'analyse génotypique du proto-oncogène RET en France****Auteurs :**

Maylis LEBEAULT (1), Stéphane PINSON (2), Marine GUILLAUD-BATAILLE (3), Anne-Paule Gimenez-Roqueplo (4), Alain CARRIE (5), Véronique BARBU (6), Pascal PIGNY (7), Stéphane BEZIEAU (8), Jean-Marie REY (9), Chantal DELVINCOURT (10), Sophie GIRAUD (11), Nathalie BOUZAMONDO (12), Julien BLIN (13), Françoise BORSON-CHAZOT (14), Vincent ROHMER (15), Anne BARLIER (16), Delphine PRUNIER (17)

1. endocrinologie, CHU angers, angers, France
2. Génétique Moléculaire, CHU Lyon, Lyon, France
3. Laboratoire de Génétique, IGR, Villejuif, France
4. Génétique, AP-HP, PARIS, France
5. Centre de Génétique Moléculaire Chromosomique, AP-HP, Paris, France
6. Laboratoire de Biologie Moléculaire, AP-HP, PARIS, France
7. Laboratoire de Biochimie et Oncologie Moléculaire, CHU Lille, LILLE, France
8. Laboratoire de Génétique, CHU Nantes, NANTES, France
9. Laboratoire de Biopathologie Cellulaire et Tissulaire des tumeurs, CHU Montpellier, MONTPELLIER, France
10. Laboratoire de Biologie Oncologique, CHU Reims, REIMS, France
11. Laboratoire de Génétique, CHU Lyon, LYON, France
12. biochimie, CHU Angers, ANGERS, France
13. INCA, INCA, PARIS, France
14. Endocrinologie, CHU Lyon, LYON, France
15. Endocrinologie, CHU Angers, ANGERS, France
16. Laboratoire de Biologie Moléculaire, AP-HM, MARSEILLES, France
17. biochimie, CHU angers, angers, France

**Mots clefs :** Néoplasie endocrinienne multiple, RET

**Résumé :**

Les NEM2 sont des affections multiglandulaires liées à des mutations germinales dominantes du proto-oncogène RET. La bonne corrélation entre le phénotype et le génotype a permis à l'ATA (The American Thyroid Association) de proposer en 2009 (révision en 2015) un guide de recommandations comportant une classification des mutations activatrices de cet oncogène basée sur le risque de développer un carcinome médullaire de la thyroïde (ATA medullary thyroid cancer guidelines). Nous reportons les résultats des tests réalisés par les laboratoires labellisés par l'INCA (TEN-GEN) entre 2003 et 2013. Le but de cette étude est d'évaluer la prévalence des variants moléculaires pathogènes (mutations) ou de signification inconnu (VSI) et de 4 polymorphismes (SNP) (G691S; L769L, S836S, S904S) du proto-oncogène RET dans la population française en fonction du phénotype.

Tous les centres impliqués dans le diagnostic moléculaire des NEM2 étaient invités à remplir les renseignements suivants: date de naissance, date du diagnostic, phénotype au moment du diagnostic, variants moléculaires du gène RET.

7323 analyses du proto-oncogène RET ont été réalisées dont 5109 cas index et 2214 études familiales. Parmi les cas index 10.1% présentaient une mutation ou VSI. Leur phénotype était pour 71% un carcinome médullaire de la thyroïde (CMT) isolé, 17.4% NEM2A et 7.7% NEM2B. Soixante-trois variants génétiques (mutation et VSI) ont été répertoriés : V804M (17.4%), C634R (12.5%) et C634Y (9.2%), L790F (8.8%), M918T (7.7%), les autres étant retrouvées dans moins de 5%. Vingt-cinq variants (8,6% des variants identifiés) n'étaient pas répertoriés dans la classification proposée par l'ATA medullary thyroid cancer guidelines dont 24% sont inconnus des bases de données.

Nous avons retrouvé une répartition des polymorphismes identique aux données publiées dans la littérature. Nous avons pu identifier l'effet cumulatif des allèles mineurs des 4 SNP étudiés et plus particulièrement que l'allèle mineur du polymorphisme du codon 691 augmente la probabilité de développer un phéochromocytome.

Cette étude rétrospective nous a permis d'établir le spectre spécifique des variants moléculaires du gène RET en France et d'identifier des VSI dont la corrélation phénotype-génotype est à réaliser. Une sous population de patient porteur de l'allèle mineur du SNP codon 691 semble être à risque de développer un phéochromocytome dans le cadre des NEM2.

**CS19 : Analyse génétique des tumeurs endocrines associées à la Néoplasie Endocrinienne multiple de type 1****Auteurs :**

Sophie GIRAUD (1), Stéphanie DUPASQUIER (1), Béatrice CHAMBE (1), Marie-Agnès COLLONGE-RAME (2), Caroline ABADIE (3), Odile BERA (4), Pascaline BERTHET (5), Julien THEVENON (6), Jean-Yves BIGNON (7), Cécile VERCHERAT (8), Alain CALENDER (1)

1. Service de Génétique Moléculaire et Clinique, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
2. Service de Génétique Médicale, CHU de Besançon - St Jacques, Besançon, France
3. Oncologie Génétique, Centre Eugène Marquis, Rennes, France
4. UF d'Oncogénétique - Service de Virologie-Immunologie, CHU de Martinique - HôpitalZobda-Quitman, Fort de France, Martinique
5. Oncologie Génétique, Centre François Baclesse, Caen, France
6. Centre de Génétique, CHU de Dijon - Complexe du Bocage - Université de Bourgogne, Dijon, France
7. Oncologie Génétique, CLCC Jean PERRIN, Université d'Auvergne, Clermont-Ferrand, France
8. INSERM 1052 - UMR CNRS 5286 , Centre de Recherche en Cancérologie de Lyon, Lyon, France

**Mots clefs :** MEN1, HRPT2, AIP, hyperparathyroïdie, tumeur hypophysaire

**Résumé :**

La Néoplasie Endocrinienne Multiple de type 1 prédispose au développement de tumeurs endocrines des parathyroïdes, du duodénum et pancréas, de l'antéhypophyse, du thymus et des bronches. Cette pathologie, à transmission autosomique dominante est secondaire à des mutations du gène suppresseur *MEN1*. L'analyse de ce gène est indiquée en cas d'association de tumeurs endocrines évocatrices du syndrome mais aussi en cas de tumeur ne touchant qu'un seul organe, en particulier si la tumeur est de survenue précoce. Des recommandations concernant ces dernières indications ont été émises en 2013 par le Groupe d'études des Tumeurs Endocrines (GTE). Dans les cas d'hyperparathyroïdie ou de tumeur hypophysaire isolée, l'analyse génétique va aussi se compléter respectivement par l'analyse du gène *CDC73/HRPT2* et du gène *AIP*.

Nous avons repris les résultats de l'analyse de ces trois gènes effectuées depuis 10 ans dans notre laboratoire pour étudier les mutations retrouvées, notamment leur fréquence en regard des indications cliniques.

L'analyse du gène *MEN1* a été effectuée chez 1977 cas index. 831 patients avaient une histoire d'hyperparathyroïdie isolée ou familiale, 210 une histoire de tumeur endocrine duodénale / pancréatique unique ou multiple ou familiale, 312 une atteinte hypophysaire personnelle ou familiale. Le nombre de mutations de *MEN1* est de 54 chez les patients avec une hyperparathyroïdie (6.5%), 12 chez les patients avec une atteinte duodéno-pancréatique (5.7%) et 4 chez ceux avec une atteinte hypophysaire (1.9%). Les patients avec d'autres indications d'analyse, le plus souvent des atteintes pluri-glandulaires, étaient au nombre de 624. Dans ce dernier groupe 116 mutations ont été identifiées (18.5%). Nous avons pu vérifier que 12 variants touchant des sites d'épissage ou à localisation intronique affectaient l'épissage. Des analyses *in silico* et quand cela était possible des analyses de co-ségrégation, des études de perte d'hétérozygotie ou de perte d'expression de la ménine ont été réalisées pour 36 faux sens non répertoriés dans la littérature.

L'analyse du gène *HRPT2* a concerné 395 patients dont 82 avec une histoire familiale d'hyperparathyroïdie et 20 avec un cancer parathyroïdien. Des mutations tronquantes ou d'épissage ont été retrouvées chez 20 patients (5%) dont 4 avec des histoires familiales et 6 avec un cancer parathyroïdien. 4 autres patients présentent un variant faux sens. L'analyse du gène *AIP* a été effectuée chez 288 patients dont 79 avec des histoires familiales. Des mutations ont été retrouvées chez 4 cas index (1.4%), tous âgés de moins de 20 ans dont 2 avec des histoires familiales de tumeur hypophysaire.

Le développement du séquençage haut débit (NGS) va permettre de réaliser des analyses conjointes sur un plus grand nombre de gènes dans le cadre des tumeurs endocrines. Les recommandations pour les indications d'analyse en cas d'atteinte endocrinienne isolée resteront valables pour limiter les analyses génétiques inutiles.

**CS20 : Deep intronic mutation of PTEN in Cowden disease****Auteurs :**

Stéphanie GOURDON (1), Maylis DUPOUY (2), Léa LEMAITRE (3), Delfine LAFON (3), Bernadette GASTALDELLO (3), Louise CRIVELLI (3), Natalie JONES (3), Emmanuelle BAROUK-SIMONET (3), Virginie BUBIEN (3), Patrick EDERY (4), Tanguy MARTIN-DENAVIT (5), Françoise BONNET (3), Michel LONGY (3), Nicolas SEVENET (3)

1. pédiatrie, CHU, Saint-Denis, Réunion
2. informatique, école d'ingénieur, Grenoble, France
3. oncogénétique, Institut Bergonie, Bordeaux, France
4. Service de génétique médicale, CHU, Lyon, France
5. Service de dermatologie, CHU, Lyon, France

**Mots clefs :** PTEN, Cowden, intronic mutation, ENCODE

**Résumé :****Introduction**

The umbrella term PTEN Hamartoma Tumor Syndrome (PHTS) gathers together several phenotypic presentations including Cowden disease related to germline *PTEN* deleterious mutations. Despite this phenotypic heterogeneity, clinically Cowden disease patients do not harbor any deleterious *PTEN* coding phase mutation, suggesting either a genetic heterogeneity or mutations lying on *PTEN* transcription regulation regions located at large distance from *PTEN* gene. Since 1997, the genetic lab of Bergonie Institute in Bordeaux underwent the molecular diagnostic of *PTEN* mutation in Cowden patients.

**Material & methods**

A series of 22 Cowden disease patients without any *PTEN* coding phase mutation was defined. For each, the entire genomic *PTEN* locus was deeply sequenced using the combination of capture and sequencing by synthesis (Illumina).

**Results**

A total of 96 unique deep intronic variants in *PTEN* gene were detected in the series of 22 patients. In order to select pathogenic variants, a succession of different computer filtering strategies were used. Variants in locally repeated region, or in genomic repeated sequences (LINE, SINE, ...) were excluded. Selected variants were then mapped in the 2209 metatables of ENCODE project and those in transcription regulation region were specifically selected. Together, a series of 6 variants was defined, 4 variants lying in intronic region of *PTEN*, one in the 3'UTR and one in a intergenic position. Intronic variants were located between 100 to 15000 nucleotides from exon-intron junction. One intronic variant is predicted to be involved in the transcription silencing of *PTEN*. Results of the prediction together with the molecular exploration of the involvement of variants in the *PTEN* expression regulation were presented.

**Conclusion**

Deep intronic variant could be a novel mechanism of deleterious *PTEN* transcription silencing, then enabling a new way of pathogenicity in Cowden disease. If fully documented, such mutation should be analyzed in every patient displaying Cowden disease clinical signs.

of note, the first three authors contributes equally to the work

**CS20 : Cowden syndrome and genetic heterogeneity****Auteurs :**

Louise Crivelli (1), Virginie Bubien (1), Jennifer Chiron (1), Françoise Bonnet (1), Natalie Jones (1), Emmanuelle Barouk (1), Nicolas Sevenet (1), Bertrand Isidor (2), Albert David (2), Isabelle Mortemousque (3), Sophie Julia (4), Patrice Couzigou (5), Frédéric Caux (6), Michel Longy (1)

1. Unité d'oncogénétique, Institut Bergonié, Bordeaux, France
2. Service de génétique médicale, CHU de Nantes - Hôpital Mère-Enfant, Nantes, France
3. Service de génétique, CHRU de Tours - Hôpital Bretonneau, Tours, France
4. Service de génétique médicale, CHU de Toulouse - Hôpital Purpan, Toulouse, France
5. Service d'hépatogastro-entérologie et d'oncologie digestive, Hôpital Haut Lévêque, Pessac, France
6. Service de dermatologie, CHU Paris Seine-Saint-Denis, Bobigny, France

**Mots clefs :** PTEN, Cowden syndrome, genetic heterogeneity

**Résumé :**

**Background:** Cowden syndrome (CS) is an inherited autosomal dominant disorder associated with germline mutations of *PTEN*. The experience gained from the implementation of molecular diagnostic analysis of *PTEN* showing the existence of patients with a demonstrative phenotype without a *PTEN* mutation, argues in favor of genetic heterogeneity. To explore this hypothesis, we performed exome sequencing and compared potentially deleterious variants in *PTEN* mutation-negative patients with CS phenotype.

**Methods:** We selected a series of 22 patients with a CS phenotype for which molecular investigations (including NGS analysis of the complete genomic locus of *PTEN*) had failed to characterize a mutation. Two of them with a sporadic presentation had parental DNA available allowing a trio strategy. Cleveland Clinic and PTEN Predict diagnostic scores were calculated for all patients. Exomes were sequenced by the Integragen company. Genomic DNA was captured by Agilent NGS Target Enrichment Sure Select Human All Exons V5®, and then paired-end sequenced using an Illumina HiSEQ 2000®. Bioinformatic analysis was based on the Illumina pipeline CASAVA1.8® using ELANDv2e® alignment algorithms. SNV and Indel annotation was performed by Integragen. Candidate genes were then selected using ERIS® Integragen software, and then validated using an in-house strategy. The first analysis compared the 22 exomes to identify candidate genes. The second analysis concerned the two trios and looked for a neo mutation.

**Results:** Approximately 2700 Indels and 37000 SNVs were identified per patient. For the first analysis, the following filters were applied to generate a list of 125 variants in 69 genes: only heterozygous Indels, Nonsense, Splice variants, with MAF less than 0,1% and a minimal depth of 10, and with at least 2 variants found in 2 patients were retained. Interestingly, a previously unreported large *PTEN* insertion was found in 2 patients with high diagnostic scores, and an Indel in *BRCA2* was found in one patient with poor diagnostic scores. In the remaining 67 candidate genes, only one showed validated alterations in more than one patient: *PLA2G4B*. For the second analysis, the following filters were applied to generate a list of 34 (first trio) and 30 (second trio) heterozygous neo mutations: only variants with MAF under 0,5% and minimal depth of 10 were retained. In the first trio, there was no validated neo mutation but in the second trio, one neo mutation was validated in a gene involved in the regulation of the PI3K/Akt signaling pathway like *PTEN*.

**Conclusion:** The identification of 2 genes whose alterations are responsible for a phenotype very similar to *PTEN* mutations may reveal important perspectives concerning functional pathways and carcinogenesis, but further investigations are needed to confirm their implication. If no new gene is identified, the alternative hypothesis seems to be the presence of undetectable *PTEN* mutations in patients with high diagnostic scores.

**CS21 : Classification des familles de type sein-ovaire sans mutation constitutionnelle de BRCA1/2 identifiée, pour le niveau de risque de cancer du sein : apport d'une stratégie d'évaluation multicritères s'appuyant sur une méthode d'analyse factorielle**

**Auteurs :**

Youenn Drouet (1), Valérie Bonadona (1), Estelle Gargano (2), Hermine Chauvin (2), Isabelle Girerd-Genessay (2), Sophie Dussart (2), Sandrine Handallou (2), Christine Lasset (1)

1. Unité de Prévention et Epidémiologie Génétique, Centre Léon Bérard et UMR CNRS 5558 Université Lyon 1, Lyon, France
2. Unité de Prévention et Epidémiologie Génétique, Centre Léon Bérard, Lyon, France

**Mots clefs :** Syndrome seins-ovaires ; Familles BRCA1/2 négatives ; niveau de risque ; Analyse en Composantes Principales ; K-means

**Résumé :**

**Contexte.** Plus de la moitié des familles suspectées de prédisposition héréditaire au cancer du sein (CS) ou de l'ovaire (CO) sont dites « BRCA négative » en l'absence de mutation des gènes BRCA1 et 2 identifiée chez le cas index. Ces familles doivent être classées en réunion multidisciplinaire (RCP) en « risque très élevé » ou « risque élevé » de CS afin de proposer un dépistage du CS adapté (Recommandations HAS 2014). En l'absence de critère standard de classification, on utilise souvent le seuil de 20% de la probabilité cumulée à 70 ans de CS (PC70CS) calculée par le modèle BOADICEA avec prise en compte du résultat négatif des analyses BRCA (Lee *et al.* *BJC* 2014). Cette méthode qui repose sur ce seul critère est discutable alors que sont également disponibles des critères décrivant le phénotype tumoral familial et les autres probabilités estimées par BOADICEA.

**Objectif.** Evaluer l'apport de critères cliniques et probabilistes pour caractériser et classer les familles « BRCA négatives ».

**Matériel et Méthodes.** Ont été incluses 399 familles « BRCA négatives » recrutées au Centre Léon Bérard entre 1995 et 2014 ; de score Eisinger (*Bull Cancer* 2004) médian égal à 5. Ont été pris en compte pour chaque famille : les scores Eisinger (EI) et Bonaïti (BO) (*Bull Cancer* 2011) et pour l'apparentée de premier degré du cas index ayant la PC70CS la plus élevée : la probabilité de mutation résiduelle BRCA1/2 (PrMut), la PC70CS, la probabilité cumulée à 70 ans de CO (PC70CO) et la probabilité cumulée de CS sur les 10 ans à venir (PC10CS) (estimées par BOADICEA). Une analyse en composante principale (ACP) couplée à la méthode des K-means a permis d'obtenir une carte factorielle et une classification non supervisée des familles en groupes homogènes.

**Résultats.** L'ACP (Figure) a regroupé en 3 catégories distinctes les critères étudiés : 1/ les scores EI et BO; 2/ les probabilités PC70CS et PC70CO; 3/ les probabilités PC10CS et PrMut. La classification non supervisée des familles a identifié 3 groupes dont 2 clairement séparés et considérés à risque très élevé (n=67; 17%) et risque élevé (n=157; 39%) comportant respectivement 30 (45%) et 157 (100%) familles avec une PC70CS < 20%. Le 3ème groupe dit « intermédiaire » situé entre les 2 groupes précédents compte 175 (44%) familles.

**Discussion.** Les familles BRCA négatives peuvent être caractérisées par trois critères facilement accessibles : le score EI et les probabilités PC70S et PrMut. Ces critères intégrés dans une carte factorielle permettent de classer 66% des familles dans 2 groupes à risque très élevé et élevé de CS. La seule prise en compte du seuil PC70CS ≥ 20% exclue la moitié des familles concernées par un risque très élevé de CS. Les familles du groupe « intermédiaire » nécessitent une évaluation en RCP.

**Conclusion.** L'analyse multicritères est performante pour classer les familles « BRCA négatives » selon la procédure conseillée par la HAS et permettrait de diminuer de moitié les familles à évaluer en RCP.

**CS22 : Séquençage ciblé à haut débit pour le diagnostic de routine des mutations somatiques thérapeutiques sur échantillons tumoraux fixés au formol et inclus en paraffine: Une étude prospective de 3366 échantillons tumoraux.**

**Auteurs :**

Alexandra Lespagnol (1), Amyra Aliouat (1), Florent Denoual (1), Annick Mosser (1), Frederique Guenot (1), Gaëlle Moron (1), Helena Gourdet (1), Cecile Chaplais (1), Marie De Tayrac (2), Jean Mosser (1)

1. Service de Génétique Moléculaire et Génomique Médicale, CHU Rennes, Rennes, France
2. Service de Génétique Moléculaire et Génomique Médicale, CHU Rennes, R, France

**Mots clefs :** FFPE, somatique, NGS, tumeur, thérapie ciblée

**Résumé :**

L'amélioration de la prise en charge des patients atteints de cancer repose en partie sur le profilage génétique du génome tumoral afin d'orienter la stratégie thérapeutique. Cela implique la capacité de réaliser le génotypage d'un nombre croissant de mutations. En permettant le séquençage massivement parallèle de million de clones, le NGS représente une technologie appropriée pour la mise en oeuvre d'une telle routine de diagnostic. Pour relever ce défi, nous avons développé un procédé en flux continu de production et d'analyse des données NGS qui est suffisamment robuste pour le diagnostic moléculaire de routine à partir des échantillons FFPE.

Un panel dédié de 127 amplicons et couvrant une région de 5,8 kb a été conçu pour détecter des mutations potentiellement actionnables dans 20 gènes clés du cancer. Nous avons utilisé une stratégie d'amplification multiplex pour la préparation de bibliothèques à l'aide du système Access Array™ (Fluidigm) et un MiSeq (Illumina) pour le séquençage profond des bibliothèques. Une suite d'algorithmes (VariantDx) dédiée au diagnostic génétique somatique a été développée pour automatiser le processus de détection et d'annotation de deux types de variations génétiques : variations de nucléotides simples (SNVs) et insertions ou délétions courtes (indels). Les données de NGS ont été produites à partir de 3366 patients (1598 cancers bronchiques non à petites cellules, 1447 cancers colorectaux, 230 mélanomes et 91 gliomes) et ont été comparées avec les résultats obtenus par les techniques de référence du laboratoire : le pyroséquençage (PS) et la PCR spécifique d'allèles (ARMS) utilisées jusque à présent dans le diagnostic de routine.

Le séquençage profond développé au laboratoire a produit une couverture minimale de 300X pour tous les amplicons et a détecté 826 altérations (770 SNVs et 56 indels) dont 822 ont également été identifiées avec les méthodes de référence. Le NGS a conduit à 3 faux négatifs liés à la mauvaise qualité de l'ADN. Quatre faux positifs détectés uniquement par NGS suggèrent que cette technique peut détecter des mutations échappant aux méthodes classiques. Considérant le PS et la PCR ARMS comme références, le protocole de séquençage profond mis en place procure une sensibilité de 0,996 et une spécificité de 0,999.

Nous avons démontré que notre approche de séquençage profond peut être mise en oeuvre de manière fiable en tant que test de diagnostic pour la détection de mutations somatiques. Ainsi, l'analyse simultanée des mutations thérapeutiques reconnues ou potentielles de 20 gènes clés du cancer est aujourd'hui la technique de routine dans le diagnostic somatique des tumeurs solides à Rennes. Cette approche améliore de façon significative la stratification moléculaire des patients et permet, pour certains d'entre eux, l'inclusion dans des essais cliniques appropriés. Enfin, cette approche est également adaptée au test de l'ADN tumoral circulant au diagnostic initial et au suivi du patient.

**CS23 : Incidence des cancers dans les familles d'enfants atteints d'Ataxie-Telangiectasie****Auteurs :**

Julie Lecarpentier (1), Eve Cavaciuti (2), Isabelle Coupier (3), Audrey Combès (4), Marie-Gabrielle Dondon (2), Catherine Dubois d'Enghein (5), Dorothee Le Gal (2), Martine Labbé (2), Anthony Laugé (5), Hélène Zattaza (6), Michel Longy (7), Bruno Buecher (5), Karin Dahan (8), Brigitte Gilbert-Dussardier (9), Laurence Faivre (10), Claude Adenis (11), Dominique Leroux (12), Xavier Tchiknavorian (13), Christine Lasset (14), Gaétan Lesca (15), Laurence Gladieff (16), Alain Lortholary (17), Jean-Pierre Fricker (18), Marc Frenay (19), Jacques-Olivier Bay (20), Philippe Vennin (11), Nicolas Janin (21), Pascaline Berthet (22), Janet Hall (23), Dominique Stoppa-Lyonnet (24), Nadine Andrieu (2)

1. Inserm, U900, Institut Curie, Mines ParisTech, Institut Curie, Paris, France
2. Inserm, U900, Institut Curie, Mines ParisTech, Institut Curie, Paris, France
3. Service de Génétique médicale et Oncogénétique, Unité d'Oncogénétique, Hôpital Arnaud de Villeneuve, CHU Montpellier, ICM Val d'Aurel, Montpellier, France
4. Unité de Génétique Médicale et Cytogénétique, Centre Hospitalier Universitaire, Nimes, France
5. Service de Génétique, Institut Curie, Paris, France
6. , Hôpital Saint Joseph, Marseille, France
7. , Institut Bergonié, Bordeaux, France
8. Service de Génétique, Laboratoire Nationale de Santé, Dudelange, France
9. Service de Génétique Médicale, CHU, Université de Poitiers, Poitiers, France
10. Service de Génétique Médicale, Oncogénétique, Hôpital d'Enfants, Centre Georges François Leclerc, Dijon, France
11. , Centre Oscar-Lambret, Lille, France
12. Département de Génétique, CHU de Grenoble, Hôpital Couple-Enfant, Grenoble, France
13. Service de Génétique, Hôpital Sainte Musse, Toulon, France
14. Unité de Génétique Médicale et Cytogénétique, Centre Léon Bérard, Université Claude Bernard Lyon 1, Lyon, France
15. , CHU de Lyon HCL, Lyon, France
16. Service d'Oncologie Médicale, Institut Claudius Regaud, IUCT-Oncopole, Toulouse, France
17. Service d'Oncologie Médicale, Centre Catherine de Sienne, Nantes, France
18. Unité d'Oncologie, Centre Paul Strauss, Strasbourg, France
19. Unité d'Oncogénétique, Centre Antoine Lacassagne, Nice, France
20. Site Estaing, CHU de Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, France
21. Centre de Génétique Humaine, Cliniques Universitaires St-Luc, Bruxelles, Belgique
22. Unité de pathologie gynécologique, Centre François Baclesse, Caen, France
23. Inserm, UMR 1052, CNRS, UMR 5286, Centre de Recherche en Cancérologie, Lyon, France
24. Service de Génétique, Inserm U830, Université Paris-Descartes, Institut Curie, Paris, France

**Mots clefs :** cancer du sein, cancer du pancreas, étude familiale, ATM, Ataxie-Télangiectasie

**Résumé :**

En 1987, Swift et coll. ont montré que les femmes apparentées à un enfant atteint d'ataxie-télangiectasie (A-T) avaient un risque élevé de cancer du sein (CS) comparé à celui des femmes de la population générale. Il y a 20 ans, le gène *ATM* (A-T muté) a été identifié, codant pour une protéine kinase dont le rôle est central dans le déclenchement des réponses aux dommages de l'ADN. Des études familiales rétrospectives menées en Europe et aux États-Unis ont confirmé le rôle du gène *ATM* dans le CS. En population générale, des mutations perte-de-fonction et certains faux-sens ont été associés au CS. Plus récemment, l'analyse de panels de gènes a identifié des mutations dans *ATM* chez des personnes référées pour une recherche de mutation sur les gènes *BRCA1/2* avec une fréquence très variable (0,7% à 2,12%).

Les premières études familiales ont également suggéré que d'autres cancers comme le cancer de l'estomac, la vessie ou l'ovaire pouvaient être plus fréquents que dans la population générale. Ces études étaient non concluantes. Cependant l'analyse du génome de 168 familles présentant de nombreux cas de cancer du pancréas a montré qu'une mutation du gène *ATM* ségrégeait dans 6 familles. La première étude familiale française sur 34 familles n'avait mis en évidence une association qu'avec le CS et pas d'autres cancers. Afin d'augmenter la puissance statistique, nous avons actualisé cette étude en incluant de nouvelles familles (étude CoF-AT).

Aujourd'hui, 235 familles ont été identifiées par le laboratoire de référence à l'Institut Curie. Sur les 211 familles contactées, 106 ont accepté de participer, soit 3 fois plus que dans la première publication. Les caractéristiques démographiques et la survenue de cancer dans ces familles ont été recueillies auprès des apparentées des enfants atteints d'A-T via les consultations de génétique. Un échantillon sanguin a été prélevé pour déterminer le

statut hétérozygote pour le gène *ATM*. Nous avons estimé le rapport d'incidence standardisée (SIR) de cancers en comparant le nombre de cancers observé dans les familles à celui attendu dans la population française.

Le CS est le cancer le plus fréquemment rapporté, avec un total de 101 cas. Le SIR est de 4,14 (IC95%=1,51-9,01) parmi les apparentées du 1<sup>er</sup> degré de l'enfant A-T, 2,21 (IC95%=1,52-3,10) parmi celles du 2<sup>e</sup> degré et 1,27 (IC95%=0,92-1,72) parmi celles du 3<sup>e</sup> degré. Nous avons observé un risque augmenté de cancer du pancréas ( $SIR_{w,p(hetAT)}=4,95$ , IC95%=3,04-7,61). Enfin, le risque de développer un lymphome ou une leucémie est augmenté chez les apparentés ayant une probabilité d'être hétérozygote AT supérieure à 60% (SIR=5,33, IC95%=1,43-13,7).

Nos résultats confirment les données de la littérature pour le CS. Ils montrent également que le cancer du pancréas pourrait faire partie des cancers associés à *ATM* dans les familles de patients A-T, avec un risque absolu à 75 ans d'environ 7% (IC95%:2,4-10,7) chez l'homme et 4% (IC95%:1,4-7,9) chez la femme.

**CS24 : Quinze ans de consultation multidisciplinaire d'oncogénétique des tumeurs endocrines : enseignements psychologiques et éthiques**

**Auteurs :**

Khadija LAHLOU-LAFORET (1), Jean-Michael MAZZELLA (2), Isabelle DU PLESSIS D'ARGENTRE (2), Anne-Paule GIMENEZ-ROQUEPLO (3)

1. Consultation multidisciplinaire d'oncogénétique ; U.F. de Psychologie et Psychiatrie de Liaison et d'Urgences, Assistance Publique – Hôpitaux de Paris, Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris, France
2. Consultation multidisciplinaire d'oncogénétique ; Service de Génétique , Assistance Publique – Hôpitaux de Paris, Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris, France
3. Consultation multidisciplinaire d'oncogénétique ; Service de Génétique , Assistance Publique – Hôpitaux de Paris, Hôpital Européen Georges Pompidou ; Université Paris Descartes, Paris, France

**Mots clefs :** paragangliomes et phéochromocytomes, tumeurs endocrines, consultation multidisciplinaires, test présymptomatique, accompagnement psychologique, transmission de l'information aux apparentés

**Résumé :**

Depuis sa création en 2000, la consultation multidisciplinaire d'oncogénétique dédiée aux paragangliomes, phéochromocytomes et autres tumeurs endocrines de l'HEGP s'est adaptée aux changements liés à l'évolution de la génétique, des techniques, à l'intégration d'un conseiller en génétique et aux modifications législatives. 1380 patients ont été reçus à cette consultation, correspondant à 1935 consultations de génétique et 1558 consultations psychologiques. Un protocole "Adulte", puis un protocole "Mineur" ont été établis, tenant compte des enjeux psychologiques et éthiques du test génétique. Le protocole "Adulte" est identique pour les cas index et les apparentés. Une attention particulière a été portée à l'anticipation des conséquences personnelles et familiales du résultat, aux modalités de l'annonce du résultat, à la transmission de l'information aux apparentés et à la mise en place d'une surveillance effective du risque tumoral chez les sujets porteurs d'une mutation. Des brochures d'information ont été rédigées pour les adultes en 2002, puis révisée en 2012, et pour les enfants en 2015. La consultation reçoit chaque année des stagiaires psychologues pour des journées de formation. Les enseignements principaux issus de cette expérience de 15 ans sont : 1/ la vulnérabilité psychologique des cas index/apparentés : une étude ancillaire du protocole PGL-EVA, sur une population de sujets porteurs d'une mutation SDH suivis pendant trois ans , a montré que les cas index ont des scores de dépression et de stress plus élevés que les apparentés; 2/ La nécessité d'accompagner psychologiquement la transmission de l'information aux apparentés : élaboration d'un questionnaire spécifique (C. Oheix, Assises 2010) ; 3/ l'importance d'un protocole spécifique et validé pour les sujets mineurs (Lahlou-Laforêt, Horm Metab Res 2012) ; 4/ Le maintien d'une consultation psychologique aux trois étapes du protocole de test (avant le test, à la première et à la seconde annonce du résultat). Ce dispositif a permis notamment d'éviter le recours au courrier destiné aux apparentés prévu par le décret de 2013 depuis sa mise en application; 5/ Le re-contact des sujets en cas de nouvelles données issues de l'évolution de la génétique doit faire l'objet d'un accompagnement psychologique (cf Abstract JM Mazzella et al, Evaluation du risque de violation de l'empreinte génomique maternelle du gène SDHD). Au total, l'accompagnement psychologique de notre consultation s'est adapté à l'évolution de la génétique. Il garde toute son importance y compris lorsque les techniques se simplifient – ou se compliquent (cas du NGS). L'expérience acquise permet de mieux aborder les cas inattendus et complexes et peut être transmise aux collègues en formation.

---

# COMMUNICATIONS ORALES SIMULTANÉES

SESSION SIMULTANÉE 5 : BASE MOLÉCULAIRE DES PATHOLOGIES 2 :  
NEUROLOGIE ET NEUROSENSORIEL

---

**CS25 : Mutations activatrices de mTOR en mosaïque dans l'hypomélanose d'Ito avec mégalencéphalie.**

**Auteurs :**

PIERRE VABRES (1), Victoria Parker (2), Yannis Duffourd (3), Judith St Onge (4), Robert Semple (2), Laurence FAIVRE (3), Jean-Baptiste Rivière (3)

1. DERMATOLOGIE, CHU DIJON BOURGOGNE, DIJON, France
2. Addenbrookes Treatment Centre, MRC Institute of Metabolic Science, Cambridge, Royaume Uni
3. EA Génétique des Anomalies du Développement, Université de Bourgogne Franche-Comté, DIJON, France
4. EA Génétique des Anomalies du Développement, CHU DIJON BOURGOGNE, DIJON, France

**Mots clefs :** mosaïque, pigmentation, syndrome neurocutané

**Résumé :**

L'hypomélanose d'Ito est définie par une hypopigmentation suivant les lignes de Blaschko associée à des manifestations neurologiques. Nous rapportons ici une anomalie génétique en mosaïque commune dans l'hypomélanose d'Ito avec mégalencéphalie. Cinq enfants (3 filles, 2 garçons), sans antécédents familiaux, ont été étudiés. Quatre avaient une hypopigmentation Blaschko-linéaire, et un une mèche blanche avec hypochromie en quadrant et hétérochromie irienne. Tous sauf une avaient une macrocrânie précoce (PC > 3 DS) et un retard des acquisitions. La patiente princeps (P1) et 3 autres patients avaient une épilepsie sévère. L'IRM cérébrale montrait une mégalencéphalie diffuse ou unilatérale, sans anomalie de la gyration ni dysplasie corticale. Chez P1 un séquençage d'exome complet à haut débit à la recherche de variants *de novo* a été effectué sur ADN de biopsie cutanée, et comparé à l'ADN sanguin des parents. Chez les 4 autres patients, un séquençage ciblé a directement été effectué sur ADN cutané. Le séquençage d'exome a identifié chez P1 une mutation activatrice du gène *MTOR* sur la peau, absente du sang et de l'ADN parental, représentant 29% des allèles. Chacun des 4 autres patients était porteur d'une mutation *MTOR* différente sur ADN cutané, indétectable ou à un taux très faible dans le sang, confirmant leur nature post-zygotique. L'étude de la voie PI3K-mTOR sur fibroblastes cutanés de P1 après déplétion en acides aminés a montré qu'elle était constitutivement activée avec phosphorylation de la S6-kinase et d'Akt. De ce fait un traitement par everolimus, inhibiteur spécifique de mTOR, a été instauré mais interrompu en l'absence d'amélioration de l'épilepsie ou des fonctions cognitives.

Même si des anomalies chromosomiques en mosaïque avaient été rapportées dans l'hypomélanose d'Ito, aucune anomalie génétique récurrente n'avait jusqu'ici été identifiée. Le rôle causal direct des mutations *MTOR* dans l'hypopigmentation est probable, l'activation de mTOR entraînant une diminution de la mélanogenèse par répression de MITF et des protéines qu'il active. Ce mécanisme rapproche l'HI de l'hypochromie de la sclérose tubéreuse, due à une inactivation de TSC1 et TSC2, protéines inhibitrices de mTOR. Des mutations de *MTOR* ont récemment été identifiées dans des mégalencéphalies et dysplasies corticales focales mais sans atteinte cutanée associée. Les troubles neurologiques, qui résultent probablement aussi de l'activation de mTOR, pourraient être accessibles aux analogues de la rapamycine malgré l'échec de l'everolimus chez notre patiente. L'hypomélanose d'Ito avec mégalencéphalie constitue une nouvelle affection en mosaïque touchant la voie de signalisation PI3K-Akt-mTOR. Nos résultats illustrent l'intérêt de l'individualisation de phénotypes homogènes et du séquençage à haut débit pour l'étude des anomalies du développement en mosaïque.

**CS26 : Cécités héréditaires précoces à l'heure du séquençage haut débit**

**Auteurs :**

ISABELLE PERRAULT (1), Sylvain Hanein (2), Nathalie Delphin (3), Josseline Kaplan (1), Jean-Michel Rozet (1)

1. Laboratoire de Génétique Ophtalmologique, Institut Imagine, Paris, France
2. Laboratoire de Génétique, Institut Imagine, Paris, France
3. Laboratoire de Diagnostique, Hopital Necker Enfants Malades, Paris, France

**Mots clefs :** NGS, Amaurose congénitale de Leber, Diagnostique différentiel, Conseil génétique

**Résumé :**

L'amaurose congénitale de Leber et les dystrophies rétiniennes sévères et précoces apparentées constituent la première cause de malvoyance grave et incurable de l'enfant. Ce sont des affections homogènes dans leur présentation initiale mais qui varient dans leur évolution et peuvent être le signe d'appel d'une ciliopathie multisystémique. A ce jour, 45 gènes sont identifiés. Les formes non syndromiques relèvent de mutations affectant diverses fonctions rétiniennes tandis que les formes syndromiques sont toutes dues à des dysfonctions ciliaires. Ces corrélations génotype-phénotype donnent au diagnostic moléculaire une importance considérable qui dépasse le conseil génétique, le diagnostic prénatal et la reconnaissance des individus éligibles aux protocoles thérapeutiques en cours ou à venir. Connaître le gène impliqué permet de prédire l'évolution ophtalmologique mais aussi et surtout le risque de survenue d'atteintes extraoculaires.

Dans ce contexte, nous avons développé une puce de reséquençage comprenant les 45 d'ACL gènes connus à ce jour ainsi que 10 gènes dont les mutations sont responsables de maladies de la rétine bien moins sévères que l'ACL, mais qui peuvent être confondues chez des patients très jeunes.

Cet outil a permis de réaliser une analyse exhaustive de 55 gènes dans 300 patients inclus dans le cadre d'un Programme Hospitalier de Recherche Clinique National (*GENPHENACL*) ou recensés plus récemment. Les mutations causales ont été identifiées pour 183 d'entre eux (61 %), révélant une majorité de formes non syndromiques de type I ou II (44%), mais aussi plusieurs cas de formes syndromiques (4%) dont la prise en charge a pu être organisée de façon optimale, ainsi que plusieurs cas de diagnostics différentiels (13%), permettant un réajustement favorable du pronostic et un conseil génétique amélioré.

Cette possibilité de génotypage permet de proposer un conseil génétique adapté, de répertorier au plus tôt les individus éligibles aux futurs protocoles thérapeutiques et de proposer une meilleure prise en charge des individus porteurs de mutations en réévaluant favorablement le pronostic, d'une part, et en réservant les examens coûteux et anxiogènes des fonctions extraoculaires aux seuls individus à risque, d'autre part.

**CS27 : Exploration de la génétique des ataxies cérébelleuses autosomiques dominantes sur une large cohorte de patients à l'aide de la nouvelle génération de techniques de séquençage**

**Auteurs :**

Marie Coutelier (1), Iulia Blesneac (2), Giulia Coarelli (1), Arnaud Monteil (2), Marie-Lorraine Monin (3), Kunie Ando (1), Emeline Mundwiller (4), Alfredo Brusco (5), Isabelle Le Ber (1), Mathieu Anheim (6), Anna Castrioto (7), Cyril Goizet (8), Charles Duyckaerts (1), Philippe Lory (2), Alexis Brice (1), Alexandra Durr (1), Giovanni Stevanin (1)

1. INSERM U 1127, Institut du Cerveau et de la Moelle Epinière, Paris, France
2. Centre National de la Recherche Scientifique UMR 5203 and INSERM U 1191, Institut de Génomique Fonctionnelle, Université de Montpellier, , Montpellier, France
3. Centre de Référence de Neurogénétique, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Assistance Publique – Hôpitaux de Paris, , Paris, France
4. Plateforme de Génotypage et Séquençage, Institut du Cerveau et de la Moelle Epinière, Paris, France
5. Department of Medical Sciences, University of Turin, Medical Genetics Unit, Città della Salute e della Scienza University Hospital, Turin, Italie
6. Département de Neurologie, Hôpital de Hautepierre, Centre Hospitalier Universitaire de Strasbourg, Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire, INSERM U 964, Centre National de la Recherche Scientifique UMR 7104, Université de Strasbourg, Strasbourg, France
7. Unité Troubles du Mouvement, Pôle de Neurologie et Psychiatrie, Centre Hospitalier Universitaire de Grenoble, , Grenoble, France
8. Université de Bordeaux, Laboratoire Maladies Rares : Génétique et Métabolisme, EA4576, , Bordeaux, France

**Mots clefs :** ataxie, NGS, CACNA1G, CACNA1A, SPG7

**Résumé :**

Les ataxies cérébelleuses héréditaires sont des maladies neurodégénératives hétérogènes cliniquement et génétiquement. Leur tableau associe un syndrome cérébelleux à d'autres atteintes variables telles qu'un syndrome pyramidal. Elles se transmettent selon tous les modes héréditaires mendéliens. Les formes dominantes (ADCA) les plus fréquentes sont causées par des expansions de polyglutamines dans plusieurs protéines. Viennent ensuite des expansions nucléotidiques introniques, puis des mutations classiques. Plus de 40 gènes ou loci sont décrits, mais, chez 40% des patients, aucune mutation causale n'est identifiée.

Pour explorer l'étiologie de ces maladies, nous avons combiné la cartographie génique et le séquençage de l'exome dans plusieurs grandes familles, et un séquençage en panel par amplicons pour les gènes connus et les candidats identifiés sur une large cohorte de 432 patients.

Si les ADCA avec expansion de polyglutamines ont été bien caractérisées épidémiologiquement, ce n'est pas le cas des formes liées à des mutations conventionnelles. Le séquençage d'une cohorte de taille exceptionnelle nous fournit des informations précieuses sur leur fréquence et leur nosologie. A titre d'exemple, nous avons identifié 23 patients (5,3%) porteurs de mutations ponctuelles de *CACNA1A*. Classiquement, les pertes de fonction de ce gène sont liées à l'ataxie épisodique de type 2, alors que les petites expansions de polyglutamine entraînent une ADCA de type 6. Nous confirmons par ces résultats que les formes non épisodiques ne sont pas génétiquement différentes. Nous avons également identifié 14 patients porteurs de variants de *SPG7*, et en particulier du variant p.A510V, dont la pathogénicité est discutée.

Les approches classiques d'exome nous ont également permis d'identifier plusieurs nouveaux gènes candidats. Parmi eux, *CACNA1G* code pour le canal calcique de type T Cav3.1. Nous rapportons un variant dans son domaine voltage sensor, p.R1715H, récurrent dans trois familles, sans effet fondateur. Nous avons confirmé sa pathogénicité par des approches d'électrophysiologie sur des cellules HEK239T. La courbe d'activation du canal muté est décalée vers des valeurs plus positives, là où la pente de la courbe d'inactivation est plus marquée. L'incorporation de ces caractéristiques dans un modèle *in silico* de neurone des noyaux cérébelleux profonds suggère une excitabilité moindre. Cela permet d'établir un lien intéressant avec l'épilepsie, maladie dans laquelle des variants de *CACNA1G* tendant au gain de fonction du canal ont été décrits comme facteurs de risque.

Notre approche nous a donc permis une étude épidémiologique approfondie d'une cohorte de taille exceptionnelle, ce qui a des conséquences directes sur le diagnostic des ADCA en clinique. Nous avons

également identifié un nouveau gène causal, qui confirme l'importance des canaux calciques dans les voies menant à ces pathologies.

**CS28 : Nouvelles perspectives dans l'atteinte spécifique du langage présentée par les patients ARX et la dysrégulation sous-jacente de FOXP1**

**Auteurs :**

Aurore Curie (1), Gaëlle Friocourt (2), Anne Reboul (3), Tatjana Nazir (3), Amandine Brun (3), Anne Cheylus (3), Gérald Bussy (3), Yves Paulignan (3), Nouchine Hadjikhani (4), Randy Gollub (4), Vincent des Portes (1)

1. neuropédiatrie, HFME, HCL, Lyon, France
2. UMR1078, Inserm, Brest, France
3. L2C2, ISC, CNRS UMR5304, CNRS, Lyon, France
4. Martinos Center for Biomedical Imaging, , MGH/Harvard Medical School, Boston, Etats-Unis

**Résumé :**

Le gène *ARX* (*Aristaless Related homeobox*) code pour un facteur de transcription dont les mutations ont été associées à plus de 10 syndromes différents allant de phénotypes caractérisés par des défauts de migration neuronale sévères tels que la lissencéphalie, à des formes plus modérées de Déficience Intellectuelle liée à l'X sans malformation cérébrale apparente, mais souvent associée à une dystonie ou à une épilepsie. Afin de mieux comprendre l'impact de la mutation la plus fréquente identifiée dans ce gène (c.429\_452dup24), une duplication de 24 paires de bases qui conduit à une expansion de polyalanines, nous avons réalisé une étude clinique détaillée de tous les patients ARX identifiés en France sur une période de 5 ans (soit 27 patients issus de 12 familles différentes) (Curie et al., 2014). L'évaluation neuropsychologique et motrice a montré que la mutation c.429\_452dup24 constitue un syndrome clinique reconnaissable, associant Déficience Intellectuelle, sans déficit moteur primaire mais avec une apraxie motrice distale des membres supérieurs avec une préhension pathognomonique. Les patients présentent également une atteinte du langage et une difficulté marquée à exécuter les praxies oro-linguales.

Afin de mieux caractériser les anomalies du langage présentées par les patients présentant la mutation c.429\_452dup24 du gène *ARX*, nous avons évalué 16 patients *ARX* français et 16 contrôles appariés en Quotient Intellectuel (QI) et en âge (patients X Fragiles). Nous avons montré que les patients *ARX* ont un trouble structurel du langage, à la fois dans les aspects réceptifs et expressifs du langage comparés aux patients X fragiles : la reconnaissance des traits phonétiques, les capacités morphosyntaxiques réceptives (test ECOSSE pour la compréhension des phrases) et expressives (TCG-R pour la production de phrases), les praxies oro-linguales étaient plus atteintes chez les patients *ARX*. Les patients X Fragiles énonçaient des mots plus complexes, et étaient moins gênés dans leur capacité à articuler des mots. Au contraire, l'analyse de la pragmatique du langage a montré que les patients *ARX* avaient de meilleures capacités interactionnelles que les patients X fragiles.

Comme l'atteinte du langage observée chez les patients présentant la mutation c.429\_452dup24 du gène *ARX* était proche de celle constatée chez les patients présentant une mutation du gène *FOXP2*, nous avons recherché une éventuelle relation entre *Arx* et *Foxp2*. Nous avons montré qu'*ARX* n'a pas d'effet sur l'expression de *Foxp2*, mais en revanche active l'expression de *Foxp1*, un homologue qui s'hétérodimérise avec *Foxp2* et a été également impliqué dans les troubles du langage. De plus, la mutation c.429\_452dup24 d'*ARX* altère l'expression de *Foxp1*. En conclusion, ces données révèlent un nouveau rôle d'*ARX* dans le développement du langage, probablement par le biais de la régulation de *Foxp1*.

**CS29 : Altération de la dynamique des microtubules et du transport vésiculaire dans les astrocytes murins et humains déficients en MeCP2: correction par l'épothilone D**

**Auteurs :**

Chloe Delepine (1), Hamid Meziane (2), Juliette Nectoux (1), Matthieu Opitz (1), Smith Amos (3), Carlo Ballatore (4), Yoann Saillour (1), Qiang Chang (5), Annelise Bennaceur-Griscelli (6), Maxime Dahan (7), Aurélien Duboin (8), Pierre Billuart (1), Yann Herault (9), Thierry Bienvenu (1)

1. Inserm, U1016, Institut Cochin, et Cnrs, UMR8104, Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, Paris, France
2. Institut Clinique de la Souris (ICS), PHENOMIN, GIE CERBM, Illkirch, France
3. Center of Neurodegenerative Disease Research, University of Pennsylvania, Philadelphie, Etats-Unis
4. Department of Chemistry, University of Pennsylvania, Philadelphia, Philadelphie, Etats-Unis
5. Department of Genetics and Neurology, University of Wisconsin-Madison, Madison, Wisconsin, Madison, Etats-Unis
6. ESTeam Paris-Sud, Université Paris-Sud 11, Inserm U935, Villejuif, France
7. Laboratoire Physico-Chimie Curie, Institut Curie, CNRS UMR168, UPMC, Paris, France
8. Recherche et Développement, ALVEOLE, Paris, France
9. Institut Clinique de la Souris (ICS), PHENOMIN, Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire, Illkirch, France

**Mots clefs :** Syndrome de Rett, MeCP2, astrocytes, microtubules, cellules iPS

**Résumé :**

Le syndrome de Rett (RTT) est une maladie neurodéveloppementale sévère affectant quasi-exclusivement les filles caractérisée après une période de développement normal de 6 à 18 mois par des troubles psychomoteurs majeurs accompagnés d'une décélération de la croissance du périmètre cranien et de stéréotypies des mains. Des mutations dans le gène *MECP2* localisé en Xq28 sont responsables de plus de 97% des formes typiques de RTT. Il a été montré qu'une déficience en MeCP2 dans les cellules gliales altère selon un mécanisme non cellulaire autonome la fonctionnalité des neurones et que la ré-expression de la protéine sauvage MeCP2 sélectivement dans les astrocytes corrige certains symptômes du modèle murin déficient en *Mecp2* comme la locomotion, l'anxiété et les troubles ventilatoires. Dans ce travail, nous montrons une altération de la dynamique des microtubules et du transport vésiculaire dans les astrocytes déficients en *Mecp2* provenant de souris *Mecp2* 308/y. Des résultats similaires ont été obtenus à partir d'astrocytes humains issus de cellules iPS provenant de fibroblastes cutanés d'une patiente porteuse de la mutation p.Arg294\*. L'utilisation de l'épothilone D (EpoD), un stabilisateur naturel des microtubules, permet de corriger *in vitro* les anomalies de la dynamique des microtubules dans les astrocytes murins et humains déficients en *Mecp2*. Enfin, l'injection hebdomadaire de faible dose d'EpoD à des souris mâles 308/y permet de corriger certains phénotypes comme le comportement exploratoire. Ces résultats sont une première étape avant d'envisager une nouvelle approche thérapeutique de ce syndrome.

**CS30 : Aspects cliniques et moléculaires du syndrome KBG : à propos de 35 patients.**

**Auteurs :**

Florence Riccardi (1), Aude Tessier (2), Tiffany Busa (1), Pierre Cacciagli (3), Charles Coutton (4), Andrée Delahaye-Duriez (5), Thierry Frébourg (2), Vincent Gatinois (6), David Genevieve (7), Anne-Marie Guerrot (2), Aurélia Jacquette (8), Philippe Khau Van Kien (9), Tjitske Kleefstra (10), Bruno Leheup (11), Sandrine Marlin (12), Vincent Michaud (13), Cyril Mignot (14), Gwenaël Nadeau (15), Philippe Parent (16), Laurence Perrin (17), Massimiliano Rossi (18), Véronique Satre (4), Elise Schaeffer (19), Annick Toutain (20), Lionel Van Maldergem (21), Alain Verloes (17), Catherine Vincent-Delorme (22), Chantal Missirian (1), Pascale Saugier-Veber (2), Alice Goldenberg (2), Nicole Philip (23)

1. Département de génétique médicale, Hôpital de la Timone-Enfant, CHU de Marseille, Marseille, France
2. Service de génétique, CHU de Rouen et Inserm U1079, Université de Rouen, Centre Normand de Génomique Médicale et Médecine Personnalisée, Rouen, France
3. GMGF INSERM UMR\_S910, Aix-Marseille Université, Marseille, France
4. Unité fonctionnelle de génétique chromosomique, Hôpital Couple-Enfant, CHU de Grenoble, Grenoble, France
5. Unité fonctionnelle de cytogénétique, Hôpital Jean Verdier, CHU de Paris Seine-Saint-Denis, Bondy, France
6. Laboratoire de génétique des maladies rares et auto-inflammatoires, Hôpital Arnaud de Villeneuve, CHRU de Montpellier, Montpellier, France
7. Département de génétique médicale, Hôpital Arnaud de Villeneuve, CHRU de Montpellier, Montpellier, France
8. Unité fonctionnelle de génétique médicale, GH La Pitié Salpêtrière, CHU de Paris, Paris, France
9. Unité de génétique médicale et cytogénétique, Hôpital Caremeau, CHU de Nîmes, Nîmes, France
10. Afdeling Genetica, Radboud universitair medisch centrum, Nijmegen, Pays-Bas
11. Service de médecine infantile et génétique clinique, Hôpital de Brabois, CHU de Nancy, Nancy, France
12. Service de génétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, CHU de Paris, Paris, France
13. Service de génétique médicale, GH Pellegrin, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France
14. Unité fonctionnelle de génétique clinique, GH Trousseau, CHU de Paris, Paris, France
15. Unité fonctionnelle de cytogénétique, CH de Valence, Valence, France
16. Département de pédiatrie et génétique médicale, Hôpital Morvan, CHRU de Brest, Brest, France
17. Unité fonctionnelle de génétique clinique, Hôpital Robert Debré, CHU de Paris, Paris, France
18. Service de génétique clinique, Hôpital Femme-Mère-Enfant, GH Est, CHU de Lyon, Lyon, France
19. Service de génétique médicale, Hôpital de Haute-pierre, CHU de Strasbourg, Strasbourg, France
20. Service de génétique clinique, Hôpital Bretonneau, CHRU de Tours, Tours, France
21. Centre de génétique humaine, Hôpital Saint-Jacques, CHRU de Besançon, Besançon, France
22. Service de génétique clinique Guy Fontaine, Hôpital Jeanne de Flandre, CHRU de Lille, Lille, France
23. Département de génétique médicale, GMGF INSERM UMR\_S910, Hôpital de la Timone-Enfant, CHU de Marseille, Aix-Marseille Université, Marseille, France

**Mots clefs :** Syndrome KBG, ANKRD11, anomalie du développement

**Résumé :**

Le syndrome KBG est caractérisé par un retard de développement, une déficience intellectuelle, une dysmorphie faciale, une petite taille et une macrodontie. Ce syndrome résulte d'altérations hétérozygotes du gène *ANKRD11* localisé en 16q24.3. La protéine Ankrd11 contrôle l'acétylation des histones et l'expression génique au cours du développement neuronal. Les objectifs de cette étude étaient de redéfinir les critères du diagnostic clinique, d'étudier les mécanismes moléculaires et de comparer le phénotype des patients avec délétion du gène et ceux avec mutation ponctuelle. Nous avons recruté 35 patients, âgées de 1 à 66 ans, dont 17 ont une mutation du gène *ANKRD11* et 18 une délétion 16q24.3, ce qui constitue la plus large série de délétions rapportée. Notre série comprend trois formes familiales. Un questionnaire standardisé a été adressé aux généticiens référents permettant de collecter les données cliniques et biologiques. La dysmorphie faciale, notamment l'aspect du nez, du philtrum et de la lèvre supérieure, est constante et caractéristique, suffisante pour poser un diagnostic même chez les patients très jeunes. En revanche, la macrodontie est absente chez 29% des patients et n'est donc plus un critère diagnostique obligatoire. Les anomalies des mains (clinodactylie du 5ème et brachydactylie) sont très fréquentes et 88% des patients ont une taille inférieure au 25<sup>e</sup> percentile. Cinq patients ont une insuffisance vélo-pharyngée, parfois responsable de troubles sévères du langage, 31% présentent une épilepsie et 28% une surdité. Le retard psychomoteur et les difficultés d'apprentissage sont constants. Les évaluations neurocognitives ont montré la présence d'une déficience intellectuelle légère à modérée chez 81% patients. Les troubles du comportement sont rares dans notre série, un seul patient présentant des traits autistiques et 3 un trouble de l'attention-hyperactivité. Trois patients ont un appendice caudal et quatre une

avance pubertaire, deux signes jamais rapportés dans la littérature. L'analyse statistique a confirmé l'absence de différence phénotypique entre les patients avec délétion et ceux avec mutation ponctuelle. Sur le plan moléculaire, toutes les mutations identifiées entraînent l'apparition d'un codon stop prématuré et sont localisées dans l'exon 10. Aucune délétion ne s'étend jusqu'au télomère, suggérant que ces délétions plus distales sont létales. Huit délétions emportent la totalité de la séquence codante. L'absence de différence phénotypique entre patients avec mutations et patients avec délétions et l'observation de délétions complètes suggèrent que le syndrome KBG résulte exclusivement d'une perte de fonction de la protéine Ankrd11. Le syndrome KBG par mutations du gène *ANKRD11* reste vraisemblablement sous-diagnostiqué. Un nombre croissant de variations étant détecté par les analyses par NGS de panel ou d'exomes, la description précise du phénotype constitue une aide précieuse pour l'interprétation de ces variants.

---

# COMMUNICATIONS ORALES SIMULTANÉES

SESSION SIMULTANÉE 6 : GÉNÉTIQUE CLINIQUE, ANOMALIES DU DÉVELOPPEMENT EMBRYONNAIRE ET FOETOPATHOLOGIE

---

**CS31 : Séquençage par technologie haut débit d'un panel de 103 gènes et régions régulatrices impliqués dans le développement des membres : application en diagnostic chez des patients atteints de malformations des membres**

**Auteurs :**

Anne-Sophie JOURDAIN (1), marion DELBARRE (2), florence PETIT (2), clémence VANLERBERGHE (2), morgane STICHELBOU (2), jamal GHOUIMID (2), frédéric FRENOIS (2), Sylvie MANOUVRIER (2), Fabienne ESCANDE (1)

1. RADEME EA 7463, Clinique de Génétique Guy Fontaine, Oncologie et Génétique moléculaire CBP, CHRU Lille, Lille, France
2. RADEME EA 7463, Clinique de Génétique Guy Fontaine, CHRU Lille, Lille, France

**Mots clefs :** haut-débit, panel, malformations, membres, NGS

**Résumé :**

Les malformations congénitales des membres (MCM) sont fréquentes (prévalence estimée entre 1.3 et 1.9 ‰ naissances). Elles peuvent être isolées ou rentrer dans le cadre de syndromes malformatifs, dont environ 1400 sont décrits dans la littérature. Leur diagnostic précis clinique et moléculaire est important afin de permettre l'établissement d'un pronostic et d'aider à la prise en charge du patient, mais aussi pour le conseil génétique. Or, l'hétérogénéité des signes cliniques, l'importante variabilité d'expression intra et extrafamiliale, les défauts de pénétrance, ou encore les phénotypes inhabituels, atypiques, ou moins bien connus (observations fœtales par exemple), rendent parfois difficiles ce diagnostic et le choix des analyses moléculaires à réaliser. Parmi les 1090 patients « index » atteints de MCM isolées ou syndromiques référés à notre équipe clinicobiologique, nous avons pu identifier la cause moléculaire, par analyse ciblée, dans 411 cas (38%). L'objectif de notre travail était d'évaluer la pertinence du recours à la technologie de séquençage haut débit d'un panel de gènes impliqués dans les MCM (moins de 150 sont connus pour être associés à des MCM isolées ou syndromiques). Au sein de notre cohorte de patients chez lesquels le diagnostic moléculaire de première intention (analyse des gènes décrits en lien avec le phénotype) était négatif, nous avons sélectionné 200 patients pour lesquels les arguments en faveur du caractère génétique de leur MCM étaient importants (notamment caractère familiale et/ou bilatéral des anomalies). Les patients ont été séquencés sur MiSeq-Illumina pour un panel Haloplex-Agilent à façon de 103 gènes ou régions décrits dans les MCM. Au terme de notre analyse, 36 variants d'intérêt ont été identifiés chez 33 patients. Dans 11 cas, le caractère délétère du variant a pu être établi (variants de *BMPR1B*, *FGFR1*, *FGFR2*, *GNAS*, *HDAC4*, *HOXD13*, *IRF6*, *TP63* et *TWIST1*). Pour 23 cas, des études complémentaires sont nécessaires, néanmoins 12 candidats sont fortement suspects (variants de *BMPR1B*, *DLX5*, *FGF10*, *FGF16*, *FGFR1*, *NIPBL*, *RECQL4* et *WNT10B*). Certains gènes comme *BMPR1B*, *FGFR1*, *DLX5* et *WNT10B* sont retrouvés mutés de façon récurrente chez des patients porteurs d'anomalies des mains, confirmant ainsi l'intérêt de leur étude pour le diagnostic différentiel des anomalies des extrémités (brachydactylies, syndactylies,...). Certains de ces variants permettent d'élargir le spectre phénotypique des anomalies des gènes étudiés (*FGFR1*, *HOXD13*, *HDAC4*, *FGF10*). Ainsi, l'identification d'un variant d'intérêt dans 18% des cas, amène à considérer le séquençage d'un panel ciblé comme une option très intéressante dans le cadre des MCM. Son utilisation en première intention pourrait être notamment envisagée pour des pathologies dont la complexité des tableaux cliniques rend difficile l'orientation des analyses moléculaires.

**CS32 : Le gène WDR73 est responsable du syndrome de Galloway-Mowat**

**Auteurs :**

Estelle Colin (1), Evelyne Huynh-Cong (2), Géraldine Mollet (2), Agnès Guichet (1), Olivier Gribouval (2), Christelle Arrondel (2), Olivia Boyer (3), Laurent Daniel (4), Marie-Claire Gubler (3), Zelal Ekinci (5), Michel Tsimaratos (6), Brigitte Chabrol (7), Nathalie Boddaert (8), Alain Verloes (9), Arnaud Chevrollier (10), Naig Gueguen (1), Valérie Desquiret-Dumas (1), Marc Ferré (1), Vincent Procaccio (1), Laurence Richard (11), Benoit Funalot (11), Anne Moncla (12), Dominique Bonneau (1), Corinne Antignac (13)

1. Département de Biochimie et Génétique, CHU Angers, Angers, France
2. Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale Unité Mixte de Recherche 1163, Laboratory of Inherited Kidney Diseases, Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, Imagine Institute, Paris, France
3. Département de Néphrologie pédiatrique, Hôpital Necker, Assistance Publique – Hôpitaux de Paris, Paris, France
4. Département d'Anatomo-Pathologie, Hôpital de la Timone, Assistance Publique – Hôpitaux de Marseille, Marseille, France
5. Département de Néphrologie pédiatrique, Faculty of Medicine, Kocaeli University, Kocaeli, Turquie
6. Département de Néphrologie pédiatrique, Hôpital de la Timone, Assistance Publique – Hôpitaux de Marseille, Marseille, France
7. Département de Neurologie pédiatrique, Hôpital de la Timone, Assistance Publique – Hôpitaux de Marseille, Marseille, France
8. Département de Radiologie pédiatrique, Hôpital Necker, Assistance Publique – Hôpitaux de Paris, Paris, France
9. Département de Génétique, Hôpital Robert Debré, Assistance Publique – Hôpitaux de Paris, Paris, France
10. Centre National de la Recherche Scientifique 6214 et Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale 1083, Université Nantes Angers Le Mans, Angers, France
11. Départements de Neurologie, Biochimie, et Génétique, CHU Limoges, Limoges, France
12. Département de Génétique, Hôpital de la Timone, Assistance Publique – Hôpitaux de Marseille, Marseille, France
13. Département de Génétique, Hôpital Necker, Assistance Publique – Hôpitaux de Paris, Paris, France

**Mots clefs :** Galloway-Mowat, WDR73, Microcéphalie, Syndrome néphrotique, Retard cognitif sévère, Hypoplasie cérébelleuse

**Résumé :**

Le syndrome de Galloway-Mowat est une pathologie autosomique récessive rare caractérisée par l'association d'un syndrome néphrotique, d'une microcéphalie et d'une atteinte neurologique. Par SNP array, à la recherche de zones d'homozygotie, puis par séquençage d'exome, nous avons identifié que des mutations perte de fonction dans le gène *WDR73* étaient responsables de ce syndrome dans deux familles non apparentées. *WDR73* code pour une protéine de la famille WD40, de fonction inconnue jusqu'alors. Nous avons montré que *WDR73* était présente dans les tissus cérébraux et rénaux. *WDR73* est localisée de manière diffuse dans le cytoplasme durant l'interphase mais se relocalise au niveau des pôles du fuseau et des microtubules lors de la mitose. Dans les fibroblastes d'un des patients et dans les podocytes déplétés en *WDR73*, on observe une architecture nucléaire anormale, une diminution de la viabilité cellulaire et une altération du réseau des microtubules. L'ensemble de ces données suggèrent que *WDR73* joue un rôle crucial dans le maintien de l'architecture et de la survie cellulaires. Au total, les mutations perte de fonctions de *WDR73* sont responsables d'un syndrome de Galloway-Mowat chez des patients qui présentent une forme tardive de protéinurie ou de syndrome néphrotique, une microcéphalie d'apparition post-natale, une atrophie optique, un retard cognitif sévère avec à l'IRM une hypoplasie cérébelleuse et un corps calleux fin.

**CS33 : Syndrome d'Ellis-Van Creveld foetal : 26 nouveaux cas, score clinico-radiologique et revue de la littérature**

**Auteurs :**

Rodolphe DARD (1), Anne-Lise DELEZOIDE (2), Marie GONZALES (3), Louise DEVISME (4), Sophie COLLARDEAU-FRACHON (5), Nicole LAURENT (6), Martine BUCOURT (7), Jean-Frederic BRUCH (8), Corinne JEANNE-PASQUIER (9), Pauline FEUCHER (1), Anne-Sophie LEBRE (1), Dominique GAILLARD (1)

1. Génétique, CHU Reims, Reims, France
2. Biologie du développement, Hopital Robert DEBRE, Paris, France
3. Génétique, Hopital Trousseau, Paris, France
4. Pathologie foetale, CHRU LILLE, LILLE, France
5. Pathologie foetale, CHU LYON, LYON, France
6. Pathologie foetale, CHU DIJON, DIJON, France
7. Unité fonctionnelle de foetopathologie,, CHU Jean Verdier, GH Paris-Seine-Saint-Denis, AP-HP,, BONDY, France
8. Pathologie foetale, CH CHARTRES, chartres, France
9. Pathologie foetale, CHU CAEN, CAEN, France

**Mots clefs :** Ciliopathies, Polydactylie-côtes-courtes, Ellis-van Creveld, EVC, EVC2

**Résumé :**

Le syndrome d'Ellis van-Creveld (EVCS), ou chondrodysplasie ectodermique, est une ciliopathie de transmission autosomique récessive appartenant au groupe des syndromes polydactylie-côtes courtes (PCC). La mortalité inconstante est conditionnée par la présence d'une cardiopathie congénitale dans 60% des cas. Des mutations des gènes *EVC* et *EVC2* ont été identifiées dans deux tiers des cas. A ce jour, 150 cas (dont 15 cas fœtaux) et 94 mutations ont été rapportés, sans corrélation génotype-phénotype. Afin de décrire les signes les plus pertinents pour évoquer le diagnostic d'EVCS en période anténatale, nous rapportons ici la plus grande cohorte fœtale décrite à ce jour avec 26 cas-index issus de 23 familles. Les données cliniques, morphologiques et radiologiques des 26 cas ont été étudiées et une étude moléculaire a été possible pour 13 fœtus par séquençage Sanger des régions codantes et jonctions exon-intron des gènes *EVC* et *EVC2*.

Des mutations des gènes *EVC* et *EVC2* ont été identifiées chez 9/13 fœtus (8/11 familles). L'étude de notre cohorte ainsi qu'une méta-analyse de la littérature nous permet de décrire un nouveau hot-spot mutationnel discret dans le gène *EVC* qui pourrait avoir un intérêt fonctionnel et 4 nouvelles mutations des gènes *EVC* et *EVC2*.

Nous décrivons ici de nouveaux signes encore jamais rapportés dans l'EVCS. Une dysmorphie faciale dans 18/26 cas, une atteinte rénale microkystique pour 6/20 cas ainsi qu'un cas avec malformation cérébrale (kyste de la fosse postérieure). Les atteintes rénale et cérébrale, bien que déjà décrites dans d'autres ciliopathies, n'ont jamais été rapportées dans l'EVCS. Nous décrivons les signes cliniques et radiologiques les plus caractéristiques et proposons un score clinico-radiologique permettant d'orienter le diagnostic d'EVCS en période anténatale. La pertinence de ce score clinico-radiologique a été évaluée par l'étude rétrospective de la littérature rapportant des cas de fœtus avec d'autres types de syndromes PCC (dystrophie thoracique de Jeune). Enfin, nous mettons en évidence une différence de phénotype entre patients mutés et patients sans mutation des gènes *EVC/EVC2*. Une corrélation génotype-phénotype notamment avec l'atteinte cardiaque a été recherchée.

En conclusion, nous rapportons ici la plus grande cohorte de fœtus avec EVCS décrite à ce jour et décrivons de nouveaux signes cliniques ainsi qu'un score clinico-radiologique utile dans la pratique clinique mais aussi dans l'analyse de variants identifiés en exome ou en panel NGS ciliome.

**CS34 : Syndrome de Fraser : présentation foetale et diagnostic anténatal à partir d'une série de 33 cas.**

**Auteurs :**

Aude Tessier (1), Mélie Sarreau (2), Fanny Pelluard (3), Gwenaëlle Andre (3), Anne Marie Beaufrere (4), Sophie Blesson (5), Martine Bucourt (6), Patrice Callard (7), Isabelle Creveaux (8), Pierre Dechelotte (4), Thierry Frebourg (9), Brigitte Gilbert Dussardier (10), Corinne Jeanne Pasquier (11), Fabien Guimiot (12), Annie Laquerriere (13), Philippe Loget (14), Charlotte Mechler (15), Marie Josée Perez (16), Rob Van Der Luijt (17), Sophie Patrier (18), Anne Marie Guerrot (1)

1. Inserm U1079, Centre Normand de Génomique Médicale et Médecine Personnalisée et Service de Génétique, Université de Rouen et CHU de Rouen, ROUEN, France
2. Service de gynécologie obstétrique, Centre Hospitalier d'Angoulême, Angoulême, France
3. Unité de pathologie foetale et placentaire, Service d'anatomopathologie, CHU de Bordeaux Pellegrin, Bordeaux, France
4. Service d'anatomo-pathologie, CHU de Clermont Ferrand, Clermont-Ferrand, France
5. Service de génétique, CHU Bretonneau de Tours, Tours, France
6. Unité fonctionnelle e foetopathologie, Hôpitaux universitaires Paris Seine Saint Denis, Bondy, France
7. Service d'anatomo-pathologie, Hôpital Tenon, Paris, France
8. Unité de biologie moléculaire, CHU de Clermont Ferrand, Clermont Ferrand, France
9. Inserm U1079, Centre Normand de Génomique Médicale et Médecine Personnalisée et Service de Génétique, Université de Rouen et CHU de Rouen, Rouen, France
10. Génétique médicale EA3808, Université de Poitiers et CHU de poitiers, Poitiers, France
11. Service d'anatomo-pathologie, CHU de Caen, Caen, France
12. Service de biologie du développement, UMR1141, CHU Robert Debré et Université Paris Diderot, Paris, France
13. Service d'anatomo-pathologie, CHU de Rouen, Rouen, France
14. Service d'anatomo-pathologie, CHU de Rennes, Rennes, France
15. Service d'anatomo-pathologie, Centre hospitalier de Colombes, Colombes, France
16. Unité de foetopathologie, Département de génétique médicale, CHRU Montpellier Hopital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
17. Sectie Genoomdiagnostiek, Univeritair Medisch Centrum Utrecht, Utrecht, Pays-Bas
18. Service d'anatomo-pathologie, CHU de Rouen, ROUEN, France

**Mots clefs :** Fraser, foetopathologie, diagnostic anté-natal

**Résumé :**

Le syndrome de Fraser est un syndrome autosomique récessif rare décrit pour la première fois en 1962. La cryptophtalmie et les syndactylies cutanées en sont les deux principaux signes cliniques. D'autres malformations sont fréquemment associées : anomalies des organes génitaux, oreilles dysplasiques, sténose laryngée, malformations digestives, malformations rénales. Ce syndrome est lié à des altérations des gènes *FRAS1*, *FREM2* et *GRIP1* impliqués dans les interactions épithélium-mésenchyme durant le développement embryonnaire. L'objectif de cette étude était de caractériser le phénotype foetal du syndrome de Fraser et sa présentation anténatale à partir du recueil de 33 cas issus de 26 familles. Vingt-trois cas étaient issus d'une interruption médicale de grossesse, 8 de mort foetale *in utero* entre 16 à 36 SA et 2 nouveau-nés décédés. Douze cas ont bénéficié d'une confirmation moléculaire. Les anomalies ophtalmologiques sont constantes; une cryptophtalmie uni ou bilatérale a été observée dans 26 cas; un colobome et/ou des synéchies oculo-palpébrales peuvent être présentes; une microptalmie a été observée dans 10/30 cas et un hypertélorisme dans 19/27 cas. Des syndactylies ont été retrouvées dans la majorité des cas (31/33) et touchent plusieurs membres. Le nez était court avec parfois une pointe bifide ou une encoche sur une aile du nez (8/29); les oreilles étaient dysplasiques. Une microstomie était présente chez 16/31 cas et une fente labiale chez 8 cas. Les organes génitaux externes étaient anormaux dans la majorité des cas (28/33) et le phénotype sexuel souvent difficile à déterminer; les anomalies rénales étaient quasi constantes (32/33) et comprenaient agénésie, dysplasie, hypotrophie. Les anomalies laryngo-trachéales concernaient 28/32 cas. A l'étage abdominal, étaient observés ombilic bas implanté (21/32), omphalocèle (6/33), malrotation intestinale ou mésentère commun (10/31), atrésie ou sténose anale (15/31). Des données échographiques étaient disponibles pour 22 fœtus, les anomalies ont été vues au cours du 2<sup>e</sup> trimestre de grossesse dans tous les cas avec suivi obstétrical. Les signes rapportés sont oligo/anamnios (n=17), ascite (n=8), anomalies rénales (n=9), signes d'atrésie laryngo-trachéale (n=10), anomalies ophtalmologiques (n= 4), anomalies des oreilles (n=2) et anomalies des extrémités (n=2). Le phénotype clinique

foetal et post-natal du syndrome de Fraser est bien décrit et ce diagnostic est facilement évoqué lors de l'examen externe y compris dans les cas de mort foetale *in utero* du 2<sup>e</sup> trimestre. En revanche, la présentation échographique est peu décrite. L'oligoamnios, qui est le premier signe, est peu spécifique et limite l'examen morphologique. Son association inhabituelle à des signes de sténose ou d'atrésie des voies aériennes hautes doit orienter vers ce diagnostic et doit faire rechercher les signes plus fins comme les syndactylies, la microphthalmie, l'ombilic bas implanté et les anomalies des organes génitaux externes.

**CS35 : Etude par ciliome d'une cohorte de 73 individus DTJ et CCPIII**

**Auteurs :**

celine HUBER (1), caroline Michot (1), Quentin SIOUR (1), Mélanie Parisot (2), Christine Bole-Feysot (2), Cécile Fourrage (3), Patrick Nitschke (3), Honorine Kayirangwa (1), Kim Hanh Le Quan Sang (1), Anne Dieux-Coeslier (4), Geert Mortier (5), Pelin Ozlem Simsek-Kiper (6), Kate Chandler (7), Albert David (8), Claire Do Ngoc Thanh (9), Christine Francannet (10), Dominique Gaillard (11), Alice Goldenberg (12), André Mégarbané (13), Sabine Sigaudy (14), Christel Thauvin (15), Ebtessam Abdalla (16), Jean-Luc Alessandri (17), Marie-Pierre Alex-Cordier (18), Clarisse Baumann (19), Maria Francesca Bedeschi (20), Eric Bieth (21), Nicole Bigi (22), Francesco Brancati (23), François Cartault (24), Thomy JL De Ravel De l'Argentièrre (25), Bérénice Doray (24), Stéphanie Drouman (26), Salima El Chehadeh (27), Jean-Philippe Cozic (28), Brigitte Estournet (29), Laurence Faivre (15), David Geneviève (30), Marion Gérard (31), Brigitte Gilbert-Dussardier (32), Fabienne Giuliano (33), Fabien Guimiot (28), Marie Gonzales (34), Bertrand Isidor (8), Marine Legendre (35), Jelena Martinovic (36), Michèle Mathieu-Dramard (37), Juliette Piard (38), Marie-Line Port-Lis (39), Marleen Simon (40), Susan Tomkins (41), Velibor Tasic (42), Annick Toutain (43), Ida Vogel (44), Sandra Whalen (45), Michael Wright (46), Alison Yeung (47), Tania Attié (48), Sophie Saunier (49), Geneviève Baujat (1), Valérie Cormier-Daire (1)

1. Service de Génétique, INSERM UMR 1163, Université Paris Descartes- Sorbonne Paris Cité, Institut Imagine, Hôpital Necker Enfants Malades (AP-HP), Paris, France
2. Plateforme de Génomique, Institut IMAGINE, Paris, France
3. Plateforme de Bioinformatique, Université Paris Descartes, Paris, France
4. Service de Génétique Clinique, CHRU, Hôpital Jeanne de Flandre, Lille, France
5. Department of Medical Genetics, Antwerp University Hospital and University of Antwerp, Edegem, Belgique
6. Department of Pediatrics, Pediatric Genetics Unit , Hacettepe University School of Medicine, Ankara, Turquie
7. Manchester Centre for Genomic Medicine, Central Manchester University Hospitals NHS Foundation Trust, Saint Mary's Hospital, Manchester, Royaume Uni
8. Service de Génétique Médicale, CHU Nantes, Nantes, France
9. Médecine Physique et Réadaptation de l'Enfant, Hôpital Raymond Poincaré, Garches, France
10. Service de Génétique Médical, CHU Estaing, Clermont – Ferrand, France
11. Service de Génétique et Biologie de la Reproduction, Hôpital Maison Blanche, Reims, France
12. Service de Génétique Médicale, CHU de Rouen, Rouen, France
13. Unité de Génétique Médicale, Faculté de Médecine, Université Saint Joseph, Beyrouth, Liban
14. Département de Génétique Médicale, Hôpital d'Enfant de la Timone, Marseille, France
15. Génétique des Anomalies du Développement, EA4271, Université de Bourgogne, Dijon, France
16. Department of Human Genetics, Medical Research Institute, University of Alexandria, Alexandria, Etats-Unis
17. Pole FME, CHU Réunion, Hôpital Felix Guyon, Saint-Denis, La Réunion, Réunion
18. Service de Génétique, Hôpital femme Mère Enfant GHE, Bron, France
19. Département de génétique clinique, Hôpital Robert Debré, Paris, France
20. Medical Genetics Unit , IRCCS Ca' Granda Foundation, Ospedale Maggiore Policlinico, Milan, Italie
21. Département de Génétique, Hôpital Purpan, Toulouse, France
22. Unité de foetopathologie, Hôpital Arnaud de Villeneuve, CHRU Montpellier, Montpellier, France
23. Department of Medical, Oral and Biotechnological Sciences, Gabriele D'Annunzio University of Chieti-Pescara, Chieti, Italie
24. Service de Génétique, CHU de la Réunion Hôpital Félix Guyon, Saint Denis, La Réunion, Réunion
25. Center for Human Genetics, University Hospitals Leuven, KU Leuven, Leuven, Belgique
26. Service de réanimation infantile, Hôpital André Grégoire, Montreuil, France
27. Centre de Génétique, Hôpital d'Enfants, Dijon, France
28. Service de biologie du développement, Hôpital Robert Debré, Paris, France
29. Médecine Physique et Réadaptation de l'Enfant, Hôpital Raymond Poincaré, Garches, France
30. Service de Génétique Médicale, Hôpital Arnaud de Villeneuve, CHRU Montpellier, Montpellier, France
31. Service de Génétique, CHR Clémenceau, Caen, France
32. Service Génétique, CHU de Poitiers, Centre de Référence Anomalies du Développement Ouest, Centre de compétence Maladie de Rendu-Osler, Poitiers, France
33. Service de Génétique , CHU de Nice, Nice, France
34. Département de Génétique Médicale, Hôpital Armand Trousseau, AP-HP, Université Pierre et Marie Curie, Sorbonne Universités, Paris, France
35. Service Génétique , CHU de Poitiers, Centre de Référence Anomalies du Développement Ouest, Centre de compétence Maladie de Rendu-Osler, Poitiers, France
36. Unité de foetopathologie, Hôpital Antoine Béclère, Clamart, France

37. Service de Génétique Clinique , CHRU d'Amiens- Hôpital Nord, Amiens, France
38. Centre de Génétique Humaine, CHU Besançon, Besançon, France
39. Unité de Génétique Clinique, , Hôpital Universitaire de Pointe à Pitre, Guadeloupe, Guadeloupe
40. Department of Clinical Genetics, Erasmus Medical Center, Rotterdam, Pays-Bas
41. Clinical Genetics Department, Mugrove Park Hospital, Taunton, Royaume Uni
42. Dept. of Pediatric Nephrology, University Children's Hospital, Skopje, ex-République yougoslave de Macédoine
43. Service de Génétique, CHRU de Tours, Tours, France
44. Department of Clinical Genetics, Aarhus University Hospital, Aarhus, Danemark
45. Unité fonctionnelle de génétique clinique, Hôpital Armand Trousseau, Paris, France
46. Northern Genetics Service, Institute of Human Genetics, Newcastle upon Tyne Hospitals NHS Foundation Trust, Newcastle, Royaume Uni
47. Victorian Clinical Genetics Services, Murdoch Children Research Institute, Parkville, Etats-Unis
48. Laboratoire de Génétique Moléculaire, Institut Imagine INSERM U-1163, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
49. Laboratory of Inherited Kidney Diseases, , INSERM UMR 1163, Université Paris Descartes- Sorbonne Paris Cité, Institut Imagine, Hôpital Necker Enfants Malades (AP-HP),, Paris, France

**Mots clefs :** Côtes courtes Polydactylie (CCP), Dysplasie Thoracique de Jeune (DTJ), ciliome, DYNC2H1

### Résumé :

Le groupe des côtes courtes polydactylie (CCP) comprend 4 entités létales (le syndrome de Saldino-Noonan (CCP type I), le syndrome de Majewski (CCP type II), le syndrome de Verma-Naumoff (CCP type III) et le syndrome de Beemer-Langer (CCP type IV)) et 2 compatibles avec la vie le syndrome d'Ellis-van Creveld (EVC) et la dysplasie thoracique asphyxiante de Jeune (DTJ). Le groupe des CCP est caractérisé par une étroitesse thoracique avec côtes courtes, des os longs courts et un aspect en trident du bassin. La polydactylie est observée de manière constante dans le type II et EVC, commune dans les types I et III et rare dans le type IV et DTJ. Il existe un chevauchement phénotypique entre les différentes formes de CCP, qui diffèrent par des malformations viscérales et l'aspect des métaphyses.

Le pronostic des DTJ est dominé par l'étroitesse thoracique à l'origine de troubles respiratoires, et l'apparition possible au cours de la vie d'une insuffisance hépatique ou rénale (16%), et / ou d'une rétinopathie pigmentaire (40%).

A ce jour, des mutations ont été identifiées dans 18 gènes codant pour des protéines du cil, confirmant l'appartenance des CCP au groupe des ciliopathies. Parmi eux, 10 gènes sont responsables de DTJ et CCPIII. Ces gènes codent pour des protéines i) du transport intraflagellaire antérograde : *IFT80* (CCPIII/ DTJ), *IFT172* (DTJ) ii) du transport intraflagellaire rétrograde et de son moteur Dynéin 2 : *TTC21B* (DTJ), *WDR19* (DTJ), *IFT140* (DTJ), *DYNC2H1* (DTJ/ CCPIII/ CCPII), *WDR34* (DTJ/ CCPIII), *WDR60* (DTJ/ CCPIII) iii) localisée au niveau du corps basal: *TCTEX1D2* (DTJ) ou iv) du centrosome : *CEP120* (DTJ).

En raison de la grande variabilité clinique observée au sein du groupe des ciliopathies et du nombre et de la taille des gènes impliqués dans ce groupe de maladies, l'utilisation du séquençage haut débit ciblé de 1220 gènes codants pour des protéines du cil, appelé ciliome a été envisagé comme une approche stratégique en termes de gain de temps et d'argent et ce, afin de séquencer un grand nombre d'individus.

Nous avons étudié une cohorte de 73 individus DTJ (55) et CCPIII (18) par ciliome et identifié des mutations dans 59% des cas (43/73, 32 DTJ et 11 CCPIII). Parmi les 43 individus mutés, des variations ont été identifiées dans *DYNC2H1* chez 29/43 (~67%, 22 DTJ et 7 CCPIII) et dans *IFT140*, *WDR19*, *WDR60*, *WDR34*, *IFT80* et *WDR35* chez 12/43 (~28%, 9 DTJ et 3 CCPIII). Pour un individu DTJ, nous avons identifié une variation hétérozygote dans *DYNC2H1* et une seconde variation hétérozygote dans *IFT140* suggérant la possibilité d'un digénisme. Dans une famille consanguine avec 2 fœtus présentant un CCPIII, nous avons mis en évidence pour la 1<sup>ière</sup> fois une mutation homozygote dans le gène *KIF24* qui code pour une kinésine centriolaire interagissant avec CP110 dans le remodelage des microtubules et la régulation de la ciliogénèse. Finalement, un exome est en cours pour les 30 individus (22 DTJ et 8 CCPIII) sans base moléculaire identifiée par ciliome.

**CS36 : Identification de nouveaux gènes impliqués dans l'holoprosencéphalie par séquençage exomique dans 22 familles**

**Auteurs :**

Charlotte Mouden (1), Wilfrid Carré (2), Sophie Rose (3), Marie De Tayrac (2), Houda Hamdi-Rozé (4), Géraldine Viot (5), Bénédicte Héron-Longe (6), Linda Akloul (7), Valérie Dupé (1), Sylvie Odent (8), Christèle Dubourg (2), Véronique David (2)

1. UMR6290 Insitut de Génétique et Développement de Rennes, Université de Rennes 1, Rennes, France
2. Laboratoire de Génétique Moléculaire et Génomique, CHU Pontchaillou, Rennes, France
3. UMR 1085 Institut de Recherche en Santé, Environnement et Travail, Université de Rennes 1, Rennes, France
4. UMR6290 Insitut de Génétique et Développement de Rennes, Université de Rennes 1, , France
5. Génétique Médicale, Maternité Port Royal, Paris, France
6. Service de Neuropédiatrie, Hôpital Trousseau, Paris, France
7. Service de génétique clinique, Hôpital Sud, Rennes, France
8. Service de génétique Clinique, Hôpital Sud, Rennes, France

**Mots clefs :** Holoprosencéphalie, séquençage de l'exome, gènes candidats, multigénique, développement

**Résumé :**

L'holoprosencéphalie (HPE) est une malformation cérébrale fréquente (1/10 000 naissances, 1/250 embryons) qui résulte d'un défaut de clivage du prosencéphale lors des stades précoces du développement. L'HPE isolée n'est expliquée que dans 30% des cas par des altérations des 4 gènes principaux *SHH*, *ZIC2*, *SIX3*, *TGIF1* et d'une dizaine d'autres gènes mineurs appartenant majoritairement à la voie de signalisation SHH. Dans 70% des cas, la mutation est héritée d'un des parents asymptomatiques (excepté pour *ZIC2*), faisant envisager une transmission complexe et multigénique. La recherche de nouveaux gènes devient donc prioritaire pour améliorer le conseil génétique auprès des familles concernées. Dans ce but, notre équipe a mis en œuvre le séquençage d'exome, sur 22 familles d'HPE, consanguines ou trios. L'exome de 8 familles consanguines avec 1 ou plusieurs enfants atteints a été séquençé avec une analyse orientée vers la recherche de mutations homozygotes, dans l'hypothèse d'une transmission récessive. Une mutation homozygote dans *STIL*, codant pour une protéine centrosomale déjà impliquée dans la microcéphalie, a été identifiée chez deux frère et sœur d'une même famille. Des tests fonctionnels cellulaires ont permis de montrer le caractère délétère de la mutation;. Dans d'autres familles, des mutations homozygotes candidates dans *FAT1* et *LRIT1* ont également été mises en évidence, et devront être testées fonctionnellement pour prouver leur pathogénicité. Le séquençage haut-débit de 11 trios dans lesquels le cas index et un des parents étaient porteurs d'une mutation dans un gène de l'HPE a également été réalisé, afin de rechercher la présence d'une seconde mutation causale chez les individus atteints. Dans une famille présentant une première mutation de *SHH*, une seconde mutation dans *DISP1*, un gène mineur de l'HPE, héritée de l'autre parent, a été identifiée chez le fœtus atteint. L'analyse étendue au reste de la famille a montré une co-ségrégation parfaite des deux mutations avec une forme sévère de l'HPE. Dans les autres familles, des mutations candidates dans des gènes du développement cérébral ont également été mises en évidence : *FAT1*, *LRP2*, *PCSK6*, *NDST1*, *LAMA5*, *SPRY4*, *IFT172*, *CEP70*... Des études sont actuellement entreprises afin de vérifier d'une part la concordance de l'expression de ces gènes avec un rôle dans le développement cérébral ; et d'autre part afin de tester l'effet délétère des mutations. Enfin, l'analyse du séquençage de l'exome de 3 trios sans mutation connue est actuellement en cours. Le séquençage d'exome de ces 22 familles a déjà permis d'identifier un nouveau gène de l'HPE, *STIL*, et de redéfinir le modèle de transmission complexe de l'HPE, notamment avec la description d'un cas de digénisme *SHH-DISP1*. Ces résultats doivent orienter le diagnostic moléculaire vers la recherche de plusieurs altérations génétiques, en utilisant le séquençage haut-débit.

---

# COMMUNICATIONS ORALES SIMULTANÉES

SESSION SIMULTANÉE 7 : DPN DPI DPNI

---

**CS37 : Analyse chromosomique sur puce à ADN en période prénatale : expérience de deux ans d'activité prescrite par les centres pluridisciplinaires de diagnostic prénatal du CHU de Lyon****Auteurs :**

Linda Pons (1), Eudeline Alix (1), Carine Abel (2), Jocelyne Attia (3), Dominique Boggio (4), Agnès Bordes (5), Jonathan Caloone (6), Fabienne Champion Raskin (3), Nicolas Chatron (1), Marie-Pierre Cordier (4), Patrick Ederly (4), Axel Fichez (6), Pascal Gaucherand (5), Cyril Huissoud (6), Audrey Lablame (1), Cécile Lajeunesse (5), Etienne Liaras (3), Jérôme Massardier (5), Mona Massoud (5), Juliette Miribel (5), Elisabeth Ollagnon (2), René Rudigoz (6), Caroline Schluth Bolard (1), Audrey Vichier Cerf (4), Marianne Till (1), Damien Sanlaville (1)

1. Service de Génétique, Laboratoire de Cytogénétique Constitutionnelle, Centre de Biologie et de Pathologie Est, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
2. Service de Génétique, Hôpital de la Croix Rousse, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
3. Service de Gynéco-Obstétrique, Hôpital de Lyon Sud, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
4. Service de Génétique Clinique, Hôpital Femme Mère Enfant, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
5. Service de Gynéco-Obstétrique, Hôpital Femme Mère Enfant, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
6. Service de Gynéco-Obstétrique, Hôpital de la Croix Rousse, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

**Mots clefs :** diagnostic prénatal, analyse chromosomique sur puce à ADN, caractérisation de remaniement chromosomique, signe d'appel échographique

**Résumé :**

L'analyse chromosomique sur puce à ADN (ACPA) s'est imposée comme un examen de première intention dans le diagnostic post-natal des déficiences intellectuelles et des syndromes malformatifs congénitaux, permettant une augmentation du taux diagnostique d'environ 12 %. Avec la maîtrise de la technique et de son interprétation, l'ACPA a été progressivement transférée en période prénatale chez les fœtus présentant des signes d'appels échographiques.

Nous rapportons les résultats d'une étude observationnelle rétrospective, réalisée sur deux années consécutives de juin 2013 à juin 2015, sur l'ACPA prescrite dans les centres pluridisciplinaires de diagnostic prénatal des Hospices Civils de Lyon.

Au total 260 femmes ont bénéficié d'une ACPA pour les indications suivantes : 249 signes d'appel échographiques (95,8 %), 7 caractérisations de remaniements chromosomiques (2,7 %) et 4 jumeaux sans signe d'appel échographique (1,5 %). Ces derniers ont été étudiés dans le cadre de grossesses gémellaires bi choriales bi amniotiques, avec signes d'appel échographiques chez l'autre jumeau. Vingt-deux ACPA ont été annulées après diagnostic d'une aneuploïdie en FISH.

Les ACPA ont été réalisées, systématiquement en parallèle d'un caryotype, sur la puce PréCytoNEM/numéro AMADID 050330, ayant été élaborée pour limiter le nombre de variants de signification inconnue (VOUS) et de découvertes incidentes.

Le délai de rendu moyen pour les examens étudiés en direct (208) était de 13,9 jours à partir du prélèvement. La présence d'une contamination maternelle a été étudiée par microsatellites. Parmi les 13 prélèvements contaminés, 6 ont pu être rendus en s'affranchissant de cette contamination par culture ou 2<sup>e</sup> prélèvement et 6 ont été rendus contaminés (15 à 50 % de contamination) après discussion d'un 2<sup>e</sup> prélèvement. Deux échecs ont été enregistrés (0,8 %) ; dans un cas le matériel à disposition était insuffisant et dans l'autre cas, une contamination maternelle de 100% a été identifiée.

Avec un niveau de résolution de 1 Mb, nous avons rendu 235 ACPA normales (90,4 %) et 23 ACPA anormales (8,9 %) comprenant 2 ACPA avec VOUS hérités d'un parent sain et 21 ACPA avec variants pathogènes. L'ACPA a identifié l'ensemble des 12 anomalies chromosomiques déséquilibrées visibles au caryotype, dont 5 correspondant à une caractérisation de remaniements chromosomiques et n'a pas identifié, de façon logique, 2 remaniements chromosomiques équilibrés visibles au caryotype. De plus, parmi les 245 fœtus à caryotype normal, 11 ACPA étaient anormales (4,5 %), correspondant à des anomalies chromosomiques déséquilibrées cryptiques.

Enfin, les issues de grossesses sont colligées afin d'inclure cette étude rétrospective dans une vision plus globale de l'activité prénatale.

En conclusion, le transfert en diagnostic de l'ACPA en période prénatale au CHU de Lyon a permis d'augmenter l'identification des anomalies pathogènes de 4,5 % par rapport au caryotype seul, ce qui est proche des données publiées.

**CS38 : Diagnostic anténatal de la trisomie 22 : Trente-sept cas colligés au sein du réseau ACLF****Auteurs :**

Xénia Latypova (1), Sonia Bouquillon (2), Céline DUPONT (3), Josette LUCAS (4), Laetitia Bronner (5), Marianne Till (6), Agnès Guichet (7), Carole Goumy (8), Nicole Joyé (9), Marie-Christine Combrisson (10), Anouck Schneider (11), Christine Coubes (12), Emmanuelle Haquet (13), Eva Pipiras (14), Lucille Altounian (15), Geneviève Lefort (16), Claire Bénêteau (1), Caroline Schluth-Bolard (17), Nicolas Chatron (17), Claudine Le Vaillant (18), Sylvie Jaillard (4), Michèle Chery (5), Anne-Claude Tabet (19), Jérôme Toutain (20), Bruno Delobel (21), Martine Doco-Fenzy (22), Cédric Le Caignec (1), Brigitte Benzacken (14), Brigitte Simon-Bouy (23), Laurence Taine (24), Jean-Pierre Siffroi (25), Philippe Vago (8), Damien Sanlaville (17), Catherine Yardin (26), Jacques Puechberty (27), KAMRAN MORADKHANI (1)

1. Génétique Médicale, CHU de Nantes, Nantes, France
2. UF Cytogénétique Prénatale, Institut de Génétique Médicale , Hôpital Jeanne de Flandre, CHRU Lille, Lille, France
3. Unité fonctionnelle de Cytogénétique, Département de Génétique , Hôpital Robert Debré, AP-HP, Paris, France
4. Laboratoire de Cytogénétique et Biologie Cellulaire, CHU Pontchaillou, Rennes, Rennes, France
5. Service de Génétique, , Hôpital de Mercy, Centre Hospitalier Régional de Metz-Thionville, Metz, France
6. Laboratoire de cytogénétique constitutionnelle, Centre de Biologie et Pathologie Est, CHU de Lyon HCL - GH Est, Lyon, France
7. Département Biochimie et génétique, CHU d'Angers, Angers, France
8. Cytogénétique Médicale, CHU ESTAING, Clermont-Ferrand, France
9. Service de Génétique et Embryologie médicales, Hôpital d'Enfants Armand-Trousseau, Hôpitaux Universitaires Est Parisien, Paris, France
10. Laboratoire de Cytogénétique, Cytogen, Saint-Herblain, Saint-Herblain, France
11. Laboratoire de Génétique Chromosomique, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, Montpellier, France
12. IDépartement de génétique médicale , Hôpital Arnaud de Villeneuve, CHRU de Montpellier, Montpellier, France
13. Département de génétique médicale, Hôpital Arnaud de Villeneuve, CHRU de Montpellier, Montpellier, France
14. Laboratoire Cytogénétique, , Hôpital Jean Verdier, CHU- Paris 13, Bondy, France
15. Service de Génétique, Hôpital de Mercy, Centre Hospitalier Régional de Metz-Thionville, Metz, France
16. Laboratoire de Génétique Chromosomique, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, , Montpellier, France
17. Laboratoire de cytogénétique constitutionnelle, Centre de Biologie et Pathologie Est, CHU de Lyon HCL-GH Est, Lyon, France
18. Gynécologie, SIG-DAN, CHU de Nantes, Nantes, France
19. Unité fonctionnelle de Cytogénétique, Département de Génétique, , Hôpital Robert Debré, AP-HP, Paris, France
20. Génétique chromosomique et moléculaire, GH Pellegrin, Bordeaux, France
21. Centre de Génétique Chromosomique, , GHICL, Hôpital Saint Vincent de Paul, Lille , Lille, France
22. Service de Génétique et Biologie de la Reproduction, , Hôpital Maison Blanche, Hôpital Universitaire de Reims, Reims, France
23. Laboratoire de génétique constitutionnelle prénatale et postnatale, Service de biologie, , CH de Versailles, Hôpital André Mignot, Versailles, France
24. Génétique Chromosomique et Moléculaire, GH Pellegrin , Bordeaux, France
25. Service de Génétique et Embryologie médicales, , Hôpital d'Enfants Armand-Trousseau, Hôpitaux Universitaires Est Parisien, Paris, France
26. Laboratoire d'Histologie, Cytologie, Cytogénétique, Biologie Cellulaire et de la Reproduction, , Hôpital Universitaire de Limoges, Limoges, France
27. Laboratoire de Génétique Chromosomique, , Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, Montpellier, France

**Mots clefs :** Trisomie 22, anomalie chromosomique anténatale, aneuploïdie foetale, conseil génétique, fausse couche précoce, aneuploïdie confinée au placenta, Clarté nucale augmentée, RCIU

**Résumé :**

La trisomie 22 (T22) fait partie des aneuploïdies les plus fréquentes dans les fausses couches précoces. Plus rarement, la T22 est de découverte anténatale et de rares cas de naissances d'enfants porteurs de T22 en mosaïque ont été décrits, avec un phénotype variable. La survie postnatale est en moyenne de 3 jours. Le conseil génétique est délicat dans le cadre d'un diagnostic anténatal de T22 en mosaïque.

Nous décrivons ici 37 cas de T22, de diagnostic anténatal, dans le cadre d'une collaboration des laboratoires de cytogénétique du réseau ACLF.

La moyenne d'âge des patientes est de 34,7 ans. Les signes d'appel majeurs étaient l'augmentation des marqueurs sériques maternels (34%), essentiellement au premier trimestre, et de la clarté nucale (31%). Dans 20% des cas, un ensemble de signes échographiques a justifié un prélèvement fœtal. Le retard de croissance intra-utérin (RCIU) et hygroma ont également été à l'origine de prélèvements (15%). Les signes les plus fréquemment présents au cours de la grossesse étaient également l'augmentation de la clarté nucale, mais aussi un RCIU, une cardiopathie et un hygroma.

Le prélèvement à visée cytogénétique mettait en évidence une T22 homogène dans la plupart des cas (91%) et plus rarement en mosaïque (9%). Dans 10% des cas, il s'agit de T22 confinées au placenta, avec naissance à terme d'enfants bien portants à caryotype normal. L'évolution des grossesses a été globalement défavorable: interruption médicale de grossesse entre 14 et 22 SA (58%), mort fœtale in utero (28%), naissance d'un enfant mort-né à terme (4%). Cependant, une faible mosaïque a été observée sur les amniocytes pour un enfant bien portant né au terme de 40 SA. L'étude cytogénétique postnatale a confirmé la mosaïque T22 à 3% sur cellules sanguines et jugales. Ce sont les marqueurs sériques maternels anormaux, et non pas les signes échographiques, qui ont été à l'origine d'un prélèvement fœtal dans les cas avec naissance d'un enfant bien portant.

Le diagnostic anténatal de la T22 repose sur des signes d'appel biologiques et/ou échographiques. L'augmentation de la clarté nucale, un RCIU, des malformations cardiaques, des variations morphologiques (hypertélorisme, dysplasie auriculaire, fente labiale et palatine, micrognathie), anomalie cérébelleuse, artère ombilicale unique, une microcéphalie, un oligoamnios, des anomalies rénales, digestives et des extrémités en sont des signes clés bien que, pour la plupart, aspécifiques. Le pronostic reste très défavorable pour les T22 homogènes ou en mosaïque, lorsque celles-ci sont confirmées sur un prélèvement de liquide amniotique.

**CS39 : Dépistage non invasif des principales aneuploïdies (trisomies 21, 18 et 13) par la plateforme de séquençage par semi-conducteurs : résultats d'une étude pilote prospective multicentrique.****Auteurs :**

Laïla Allach El Khattabi (1), Paul Gueguen (2), Stéphanie Brun (3), Nicolas Chatron (4), Juliette Nectoux (5), Arthur Sorlin (6), Erwan Guichoux (7), Juliana Pipoli da Fonseca (8), Manal Quere (9), John Boudjarane (10), Céline Bonnet (11), Sacha Schutz (2), Franck Letourneur (8), Audrey Coustier (12), Caroline Schluth-Bolard (4), Philippe Jonveaux (6), Benoît Arveiler (13), Véronique Paquis-Fluckinger (9), Sylvie Bannwarth (10), Claire Bardel (14), Frédéric Tores (15), Catherine Badens (10), Michel Goossens (5), Michel Vidaud (5), Damien Sanlaville (4), Claude Ferec (2), Jean Michel Dupont (1), Caroline Rooryck (13)

1. Service de Cytogénétique, INSERM U1016, APHP-HUPC-Cochin, Université Paris Descartes, Paris, France
2. Laboratoire de génétique moléculaire, INSERM U1078, CHRU Brest, Brest, France
3. Maternité Centre Aliénor d'Aquitaine, CHU Bordeaux, Bordeaux, France
4. Service de Génétique, HCL, UCBL1, Lyon, France
5. Service de Biochimie et Génétique Moléculaire, APHP-HUPC-Cochin, Université Paris Descartes, Paris, France
6. Service de génétique, INSERM U954, CHRU Nancy, Université de Lorraine, Nancy, France
7. Plateforme Génome Transcriptome de Bordeaux, INRA Cestas, Bordeaux, France
8. Plateforme génomique – Inserm U1016, Institut Cochin, Paris, France
9. Service de Génétique Médicale, Hôpital de l'Archet II, CHU de Nice, Nice, France
10. Département de génétique médicale, CHU Timone, Marseille, France
11. génétique moléculaire, INSERM U1078, CHRU Nancy, Université de Lorraine, Nancy, France
12. Service de Cytogénétique, APHP-HUPC-Cochin, Paris, France
13. Service de Génétique Médicale, CHU Bordeaux, Université de Bordeaux, Bordeaux, France
14. Service de Biostatistique, CNRS UMR 5558, HCL, UCBL1, Lyon, France
15. Plateforme Bioinformatique Paris Descartes, Institut Imagine, Paris, France

**Mots clefs :** Aneuploïdies, Dépistage prénatal non invasif, Séquençage par semiconducteurs

**Résumé :**

Le passage au test combiné du premier trimestre dans le cadre du dépistage de la trisomie 21 a significativement amélioré l'efficacité du dépistage. Néanmoins, le nombre de faux positifs à l'origine de gestes invasifs inutiles reste encore élevé. Aujourd'hui, le dépistage prénatal non invasif par séquençage massivement parallèle de l'ADN fœtal libre circulant dans le sang maternel fait partie intégrante du panel des tests de diagnostic prénatal dans plusieurs pays entraînant une diminution importante de gestes invasifs tout en offrant une très bonne sensibilité de dépistage des trois aneuploïdies les plus fréquentes, les trisomies 21, 18 et 13. Une large majorité des travaux publiés évalue les performances du séquençage utilisant la technologie Illumina®, tandis que celles de la technologie Ion Proton® restent peu documentées.

Nous avons mis en place un consortium français constitué de 7 laboratoires appartenant à des centres hospitalo-universitaires répartis sur l'ensemble du territoire, afin d'évaluer les performances de la plateforme de séquençage par semi-conducteurs, Ion Proton®, dans le dépistage non invasif des principales aneuploïdies fœtales. Un protocole commun de la partie pré-analytique jusqu'à l'analyse bioinformatique a été mis en place dans le cadre de cette étude prospective multicentrique.

Nous avons inclus 520 patientes enceintes (entre 12 et 35 SA) à haut risque d'aneuploïdie fœtale et pour lesquelles un caryotype fœtal sur prélèvement invasif était programmé. Une trisomie 21, 18 ou 13 a été mise en évidence dans 15 % des caryotypes fœtaux. Les résultats du dépistage non invasif par séquençage utilisant la technologie Ion Proton ont été analysés en aveugle puis comparés à ceux du caryotype fœtal. Par ailleurs, nous avons pu établir un ensemble de critères de qualité (quantification de la librairie, nombre de lectures analysées, etc...) dans un but d'implémentation en diagnostic clinique.

Le dépistage non invasif des aneuploïdies par la technologie des semi-conducteurs présente l'avantage d'être rapide et relativement peu onéreux, ce qui en fait une alternative attrayante pour une utilisation en population à moyen voire bas risque d'aneuploïdies fœtales, et pour un volume d'activité moindre que pour la technologie Illumina® donc plus adapté à certaines structures.

**CS40 : La quantité d'ADN mitochondrial dans l'embryon préimplantatoire humain est-elle un marqueur prédictif des chances de grossesse après fécondation in vitro ?****Auteurs :**

NADINE GIGAREL (1), NELLY FRYDMAN (2), LAETITIA HESTERS (2), AGNES ROTIG (3), ARNOLD MUNNICH (3), JEAN-PAUL BONNEFONT (1), JULIE STEFFANN (1)

1. GENETIQUE MOLECULAIRE, NECKER-ENFANTS MALADES, PARIS, France
2. BIOLOGIE DE LA REPRODUCTION, ANTOINE BECLERE, CLAMART, France
3. INSTITUT IMAGINE, NECKER-ENFANTS MALADES, PARIS, France

**Mots clefs :** ADN mitochondrial, embryon, DPI, FIV

**Résumé :**

La réplication de l'ADN mitochondrial (ADNmt) est éteinte dans l'embryon au stade préimplantatoire, depuis la fécondation jusqu'à l'implantation. Le développement embryonnaire précoce qui nécessite des réserves énergétiques importantes, repose donc entièrement sur les réserves ovocytaires en ADNmt. Des études antérieures ont d'ailleurs montré une corrélation positive entre la quantité d'ADN mitochondrial (ADNmt) ovocytaire et la capacité d'un ovocyte à être fécondé (Reynier et al., 2001). De façon surprenante, une étude récente a montré une corrélation inverse entre la quantité d'ADNmt dans des embryons au stade blastocyte (5ème jour de développement) et leur capacité à se développer (Fragouli et al., 2015). Nous avons recherché l'existence d'une corrélation entre le nombre de copies d'ADNmt dans l'embryon au 3ème jour de développement, et la qualité embryonnaire à ce stade, ainsi que la capacité de l'embryon à donner lieu à une grossesse évolutive. Le nombre de copies d'ADNmt a été déterminé par PCR quantitative à partir de l'ADN résiduel de 201 blastomères prélevés sur 119 embryons, après qu'un diagnostic préimplantatoire de maladie monogénique, sans relation avec la moindre maladie métabolique, ait été réalisé.

Nous montrons que la quantité d'ADNmt cellulaire, qui est de 76 000 copies en moyenne, varie profondément d'une cellule à l'autre (250 à 96.000 copies), y compris au sein d'un même embryon. Consécutivement, la quantité d'ADNmt d'un embryon à J3 (630.000 copies en moyenne) est très variable d'un embryon à l'autre (variant de 60.000 à 2.000.000 copies). Cette variabilité inter-embryonnaire est présente parmi les embryons d'une même cohorte provenant d'une même patiente, ce qui suggère qu'il n'existe pas de paramètre individuel prédictif de la quantité d'ADNmt. Par contre, les embryons de beau grade (A, B et C+) ont un nombre de copies d'ADNmt significativement plus faible que les embryons de bas grade (C-) ( $p=0.048$ ). Cependant, les 10 embryons ayant donné lieu à une grossesse évolutive ont une quantité d'ADNmt (742 000 copies) non statistiquement différente des 31 embryons qui n'ont pas évolué (706 000 copies)

Ces résultats suggèrent qu'une diminution de la quantité d'ADNmt à J3 est corrélée à une meilleure qualité embryonnaire, mais sans répercussion sur le potentiel de développement ultérieur de l'embryon. Cette étude, bien que portant sur un nombre limité d'embryons, ne confirme donc pas les données obtenues à un stade plus tardif de développement embryonnaire. En conséquence, la quantité d'ADNmt présente dans un embryon au stade clivé ne semble pas pouvoir être utilisée comme un marqueur prédictif du développement embryonnaire ultérieur.

**CS41 : Diagnostic prénatal non invasif de mucoviscidose : détection de la mutation p.Phe508del par une méthode associant MEMO (Mutant Enrichment with 3'-Modified Oligonucleotides)-PCR et analyse de fragments****Auteurs :**

Charlotte Dubucs (1), Vanessa Debant (1), Caroline Raynal (1), Claire Guissart (1), Michel Koenig (1), Cecile Rouzier (2), Amandine Boureau-Wirth (2), Emmanuelle Haquet (3), Jacques Puechberty (3), Philippe Khau Van Kien (4), Eric Bieth (5), Marie-Pierre Brechard (6), Mireille Claustres (1), Marie-Claire Vincent (1)

1. Laboratoire de Génétique Moléculaire, IURC, CHRU Montpellier, Montpellier, France
2. Service de Génétique Médicale, CHU Nice, Nice, France
3. Service de Génétique Médicale, CHU Montpellier, Montpellier, France
4. Laboratoire de cytologie clinique et cytogénétique, CHU Nîmes, Nîmes, France
5. Service de Génétique Médicale, CHU Toulouse, Toulouse, France
6. Service de diagnostic prénatal, Hôpital Saint-Joseph, Marseille, France

**Mots clefs :** Diagnostic prénatal non invasif, MEMO-PCR, Analyse de fragment, mucoviscidose, p.Phe508del

**Résumé :**

Le diagnostic prénatal non invasif (DPNNI) des maladies monogéniques à partir de sang maternel est un véritable challenge pour réduire ou supprimer les gestes invasifs associés à un risque de perte fœtale. La méthode MEMO, technique simple décrite par *Lee et al.* en 2011, repose sur l'utilisation d'un set de 3 amorces, dont une modifiée en 3' qui bloque l'extension de l'allèle normal tout en permettant, l'extension de l'allèle muté. Cette approche, qui permet d'enrichir le produit de PCR en allèle muté, est applicable à différentes stratégies d'analyse de génétique moléculaire. Nous décrivons ici une nouvelle association MEMO-PCR/analyse de fragment pour la détection de la mutation p.Phe508del, mutation la plus fréquemment impliquée dans les formes de mucoviscidose classique (67% des allèles mutés chez les patients en France). La validation analytique de la technique MEMO-PCR/analyse de fragments (sensibilité, spécificité, seuil de détection..) a été effectuée sur des échantillons d'ADN chimères à une concentration finale de 100 pg/µl, créés artificiellement pour « imiter » le plasma maternel et contenant 0, 2, 5, 10, 20 et 100% d'ADN mutant p.Phe508del. La discrimination des allèles repose sur leur taille : allèle normal (149 pb) et allèle muté (143 pb). Cette étape a été suivie d'une validation clinique par étude rétrospective de plasmas maternels de femmes enceintes, ayant fait l'objet d'une demande de diagnostic prénatal (DPN) de mucoviscidose au laboratoire : 9 DPN pour antécédents familiaux de mucoviscidose (père porteur de la mutation p.Phe508del et mère porteuse d'une autre mutation impliquée dans la mucoviscidose) et 6 DPN sur signes d'appels échographiques (anomalies digestives fœtales). Après validation de la présence d'ADN fœtal dans l'échantillon (*Guissart et al.* 2015) les résultats des tests MEMO-PCR/analyse de fragments ont tous été corrélés aux résultats des DPN sur villosités choriales ou liquide amniotique. Ce test présente de nombreux avantages pour le DPNNI : simplicité de mise en œuvre, rapidité d'exécution, faible coûts et facilité d'interprétation. Enfin, cette approche peut être appliquée à toute maladie monogénique justifiant un DPN et impliquant des mutations de type petite insertion ou délétion.

**CS42 : Dépistage non invasif des trisomies 13, 18 et 21 en population à bas risque : résultats préliminaires de l'étude multicentrique prospective interventionnelle DEPOSA.****Auteurs :**

Jean-Marc Costa (1), Alexandra Letourneau (2), Laurent Bidat (3), Jean-Marie Jouannic (4), Romain Favre (5), Joelle Belaisch-Allart (6), Marie-Victoire Sénat (7), Broussin Bernard (8), Quarello Edwin (9), Vassilis Tsatsaris (10), Pascale Kleinfinger (11), Claude Giorgetti (12), Fanny Lachaux (2), Alexandra Benachi (2)

1. Département de Biologie Spécialisée et de Génétique, Laboratoire CERBA, Saint-Ouen l'Aumône, France
2. Gynécologie-Obstétrique, Hôpital Antoine Bécclère, Clamart, France
3. Gynécologie-Obstétrique, Centre Hospitalier René Dubos, Pontoise, France
4. Gynécologie-Obstétrique, Hôpital Armand-Trousseau, Paris, France
5. Gynécologie-Obstétrique, SIHCUS-CMCO, Schiltigheim, France
6. Gynécologie-Obstétrique, Centre Hospitalier des Quatre Villes, Saint-Cloud, France
7. Gynécologie-Obstétrique, Hôpital Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France
8. Unité de Diagnostic Prénatal, Maison de Santé Protestante de Bagatelle, Talence, France
9. Unité de Diagnostic Prénatal, Institut de Médecine de la Reproduction, Marseille, France
10. Maternité Port-Royal, Hôpital Cochin, Paris, France
11. Département de Biologie Spécialisée et de Génétique, Laboratoire CERBA, Saint-Ouen l'Aumône, France
12. Centre Biologique, Institut de Médecine de la Reproduction, Marseille, France

**Mots clefs :** dépistage trisomie 21, NIPT, cell-free DNA

**Résumé :**

Le dépistage des aneuploïdies par analyse de l'ADN fœtal circulant dans le sang maternel (NIPT) n'est pas recommandé à ce jour en population générale notamment en raison du manque de données. Deux études multicentriques prospectives récentes, l'étude CARE (Bianchi et al. 2014) et l'étude NEXT (Norton et al. 2015) ont montré la supériorité du test NIPT en population à bas risque. Toutefois, ces études étaient observationnelles et nous présentons ici l'analyse des résultats préliminaires d'une étude **multicentrique** (9 centres investigateurs) **prospective interventionnelle** d'évaluation des performances du test NIPT en population générale et dans une population de patientes enceintes après procréation médicalement assistée en parallèle du dépistage conventionnel par les marqueurs sériques maternels.

Les résultats préliminaires portent donc sur 658 patientes dont 529 grossesses spontanées (groupe GS) et 129 grossesses obtenues après procréation médicalement assistée (groupe PMA). Les patientes ont été testées par dépistage combiné au premier trimestre (n=625), dépistage intégré au second trimestre (n=25) ou marqueurs sériques seuls au deuxième trimestre (n=8). Le test NIPT a été centralisé dans un seul laboratoire et réalisé selon la méthode décrite par Benachi et al. *Obstet Gynecol.* 2015 qui inclut la mesure de la fraction d'ADN fœtal plasmatique.

Au total, 60 patientes (9,1%) présentent un risque accru de trisomie 21 fœtale dont 54 (8,6%) pour le dépistage combiné au premier trimestre. Ces 60 patientes à risque appartiennent respectivement au groupe GS (n=35 soit 6,6%) et groupe PMA (n=25 soit 19,3%). Le résultat du test NIPT était positif pour la trisomie 21 pour 4 d'entre elles (4 groupe GS) et le diagnostic de trisomie 21 fœtale a été confirmé pour ces 4 patientes (3 trisomies 21 libre et homogène, 1 trisomie 21 libre en mosaïque). Aucune des 56 autres patientes à risque n'a souhaité avoir recours à un geste invasif.

Parmi les 598 patientes n'appartenant pas à un groupe à risque par les marqueurs sériques, le test NIPT était positif pour la trisomie 21 pour une patiente (groupe PMA) et le diagnostic confirmé par caryotype fœtal. Par ailleurs, le test NIPT était également positif pour la trisomie 13 pour une autre patiente (groupe PMA) ; il n'a pas été réalisé de geste invasif pour cette grossesse qui est en cours de suivi. Enfin pour deux autres patientes (groupe GS), le résultat du test non invasif était non exploitable en raison d'une fraction d'ADN fœtal ne répondant pas aux critères de validation du laboratoire ( $< 4\%$ ). Ces deux patientes n'ont pas fait l'objet d'une investigation invasive.

L'utilisation du NIPT en dépistage primaire permettrait d'éviter jusqu'à 91,6% des gestes invasifs au moment du dépistage. L'étude incluant le suivi prospectif des patientes jusqu'à la naissance, elle va permettre d'évaluer la diminution réelle à terme, ainsi que la sensibilité du test. L'ensemble des résultats seront détaillés et commentés.

---

# COMMUNICATIONS ORALES SIMULTANÉES

SESSION SIMULTANÉE 8 : CONSEIL GÉNÉTIQUE, ÉTHIQUE ET PSYCHOLOGIE

---

**CS43 : Histoire racontée, « la famille de Victor, Hugo et Léa » : un livre pour enfants sur la maladie de von Hippel-Lindau.**

**Auteurs**

Caroline ABADIE (1), Anne-Charlotte JOUVE (2), Monique ROBLIN (3), Khadija LAHLOU-LAFORET (4), Stéphane RICHARD (5), Isabelle COUPIER (6)

1. Service de Génétique Médicale, Unité d'Oncogénétique Clinique et Réseau National pour Cancers Rares de l'Adulte PREDIR labellisé par l'INCa, CHU Hôpital Sud, 35200 Rennes et Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Hôpital Bicêtre, 94270 Le Kremlin-Bicêtre, Rennes, France
2. Maison des Artistes, 75484 Paris cedex 10, Paris, France
3. Service de Génétique Clinique, Oncogénétique, CHU Hôpital Sud, 35200 Rennes, Rennes, France
4. Consultation multidisciplinaire d'oncogénétique et Réseau National pour Cancers Rares de l'Adulte PREDIR labellisé par l'INCa, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Hôpital Européen Georges Pompidou, 75015 Paris et Hôpital Bicêtre, 94270 Le Kremlin Bicêtre, Paris, France
5. Centre de Référence, Réseau National pour Cancers Rares de l'Adulte PREDIR labellisé par l'INCa et Génétique Oncologique EPHE, INSERM U1186, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Hôpital Bicêtre et Faculté de Médecine Paris-Sud, 94270 Le Kremlin-Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France
6. Service de Génétique Médicale, Unité d'Oncogénétique et Réseau National pour Cancers Rares de l'Adulte PREDIR labellisé par l'INCa, CHU Montpellier, 34295 Montpellier et Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Hôpital Bicêtre, 94270 Le Kremlin-Bicêtre, Montpellier, France

**Mots clefs** : maladie de von Hippel-Lindau, enfants, éducation

**Résumé :**

La maladie de von-Hippel-Lindau (VHL) est une maladie génétique rare, de transmission autosomique dominante, due à des mutations constitutionnelles du gène suppresseur de tumeur *VHL*, prédisposant à de multiples lésions tumorales multisystémiques à la fois bénignes et malignes. La maladie peut se révéler dans l'enfance, les deux principales manifestations étant l'hémangioblastome rétinien et le phéochromocytome. En France, le dépistage pré-symptomatique de cette maladie est proposé à partir de l'âge de 5 ans. Les enfants porteurs bénéficient de mesures de surveillance adaptées dès l'âge de 5 ans, permettant un dépistage précoce des lésions. L'éducation du patient et de sa famille sont au cœur d'une prise en charge optimale devant la dimension multisystémique, chronique et familiale de cette prédisposition. La démarche du test génétique prédictif dès l'enfance nécessite une information adaptée à la population pédiatrique. A ce jour, en France, seule est disponible pour les enfants la version traduite du manuel américain VHL Handbook, Kids' Edition (Kruger, Eckerman, Doyle and Chan-Smutko, 2009), construit comme un guide didactique de la maladie avec une prise en charge non complètement transposable aux recommandations actuelles françaises. Nous avons souhaité rédiger un livre pour les enfants qui vont réaliser une analyse génétique. Le livre est construit telle une histoire racontée à l'enfant, ciblée sur la démarche du dépistage pré-symptomatique et ses enjeux, au cœur d'une histoire familiale. Avec la collaboration d'une graphiste-illustratrice pour enfants, nous présentons notre projet finalisé, aboutissant à la conception d'un livre dédié à l'enfant âgé de 5 à 10 ans, mêlant humour et pédagogie, intitulé « la famille de Victor, Hugo et Léa ».

**CS44 : L'information à la parentèle en génétique humaine : champ d'application et questionnement éthique appliqué**

**Auteurs :**

Sandrine de Montgolfier (1), Diane d'Audiffret Van Haecke (2)

1. Institut de Recherche Interdisciplinaire sur les enjeux Sociaux (IRIS), Ehess/INSERM/CNRS, Paris, France

2. Laboratoire Interdisciplinaire d'étude du Politique Hannah Arendt - Paris-Est (LIPHA-PE) , Marne-La-Vallée Cedex, France, Université Paris Est Marne-la-Vallée (UPEM), Marne La Vallée, France

**Mots clefs :** information à la parentèle, tests génétiques, conseil en génétique, loi, bioéthique, focus group

**Résumé :**

La loi de bioéthique de 2011 suivie de la publication des textes réglementaires d'application a rendu effectif la question de l'information à la parentèle en génétique humaine en donnant à la personne testée pour une anomalie génétique grave pouvant faire l'objet d'un traitement ou d'une prévention efficace, la charge de transmettre à ses apparentés l'information qui pourrait les concerner. L'ensemble du corpus législatif et réglementaire étant en place, se pose la question sur le terrain de son applicabilité dans la diversité des indications génétiques que peuvent rencontrer les professionnels. Dans le cadre d'un projet de recherche multidisciplinaire financé par l'INCA (2013-mi 2016) sur l'information à la parentèle, nous proposons ici de relater les résultats de la dernière phase du projet basée sur la méthodologie du groupe de discussion (ou « focus group ») - méthode d'enquête qualitative qui permet de recueillir en peu de temps des réactions de personnes sur un sujet donné pour évaluer l'impact d'un programme par la compréhension et l'analyse des opinions exprimées par les participants.

Les travaux de l'équipe juridique (cf Poster C. Farnos et E. Rial-Sebbag), ceux des deux axes d'enquêtes auprès des professionnels - un par méthode ethnographique et sociologique (cf Poster de B. Derbez) et l'autre par questionnaire en ligne (cf Poster de D. d'Audiffret) – ont été présentés au groupe de discussion. Ainsi à travers l'enquête ethnographique dans deux services de génétiques (maladie du globule rouge et service d'oncogénétique), des différences de pratique selon les contextes de pathologies génétiques ont été mises en évidence. De même, le questionnaire auprès des professionnels impliqués a révélé des situations variables selon les pathologies mais également selon les professionnels concernés (conseillers en génétique, généticiens, cliniciens non généticiens, psychologues). La loi n'est que rarement remise en cause, c'est son champ d'application qui semble interroger les professionnels au regard des différents critères d'exécution de celle-ci (« anomalie génétique grave dont les conséquences sont susceptibles de mesure de prévention, y compris de conseil génétique, ou de soins » article L1131-1-2). Le groupe de discussion composé de personnes aux compétences disciplinaires variées (généticiens, conseillers en génétique, anthropologue, sociologue, philosophe, représentant d'associations de patients, juriste, psychologue) a travaillé la question des critères d'applicabilité de la transmission de l'information à la parentèle pour accompagner les professionnels concernés par la prescription de tests génétiques. Nous proposons de rendre compte des débats du focus group et des questions qui ont pu émerger de ces discussions.

**CS45 : Information des enfants sur leur statut génétique pour la maladie de Huntington**

**Auteurs :**

Stéphane-Françoise Clément (1), Hanane Bouchgoul (2), Marcela Gargiulo (3), Alexandra Durr (3)

1. , ICM (Institut du Cerveau et de la Moelle épinière), PARIS, France

2. Département de gynécologie et obstétrique, APHP Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, PARIS, France

3. Département de génétique, APHP Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, PARIS, France

**Mots clefs :** maladie de Huntington, information des enfants, parentèle, responsabilité parentale, diagnostic prénatal

**Résumé :**

**Problématique :** L'obligation légale d'information de la parentèle est un changement majeur des circonstances éthiques du diagnostic génétique qui remet en question le secret médical et les principes de base du test présymptomatique. Informer ses enfants et les autres membres de la famille est une tâche difficile, notamment lorsqu'il n'existe pas encore de prévention ou de traitement curatif. Les parents s'interrogent : Où se situe notre responsabilité ? Doit-on le dire ? Comment les enfants vont-ils réagir ? Quels sont les bénéfices ? S'agit-il d'un savoir potentiellement nuisible ? Qui doit le dire ? Comment le dire ? Quand le dire ?

**Données existantes :** Une étude (Gargiulo, 2002) sur la façon dont les personnes concernées avaient été informées du risque pour la maladie de Huntington montrait que seulement 20% d'entre elles avaient été informées par leurs propres parents et qu'elles l'avaient appris tardivement (32 ans en moyenne). La grande majorité avait informé leurs enfants (73%) mais avaient attendu qu'ils soient adolescents (14 à 18 ans) et/ou les premiers signes de la maladie chez le parent porteur.

En 2015 (Bouchgoul, 2015), dans une enquête réalisée auprès de 54 femmes ayant réalisé un DPN, car elles étaient porteuses ou le père de l'enfant était porteur de la mutation, 38 avaient au moins un enfant indemne de la mutation. Ces enfants nés après un DPN étaient pratiquement tous en âge de comprendre (13 ans en moyenne), cependant la plupart des couples (26/38, 68%) n'avaient pas informé leurs enfants de leur statut génétique de non porteur. Les femmes qui indiquaient avoir informé leurs enfants (32%) donnaient comme motivation principale l'apparition des signes de la maladie chez le parent porteur.

**Discussion :** L'analyse qualitative des réponses indique que le choix de parler ou de se taire est l'expression individuelle de la responsabilité parentale qui se traduit : soit par la volonté de protéger l'enfant d'un savoir potentiellement redoutable, soit par la volonté de considérer l'enfant comme un être autonome qui peut assimiler une information qui le concerne directement.

**Conclusion :** Ces résultats rappellent combien il est difficile de parler aux enfants de la maladie de Huntington, de son caractère héréditaire et du risque. Bien que les parents soient plus enclins que leurs ascendants à transmettre l'information aux enfants, des non-dits persistent. Ils concernent aussi la possibilité d'informer un enfant sur son statut de non porteur après un DPN.

**CS46 : Enjeux éthiques et psychosociaux de l'annonce de résultat d'un examen par séquençage à haut débit : les attentes des parents d'enfants atteints de maladies du développement**

**Auteurs :**

Aline CHASSAGNE (1), Olivier PUTOIS (2), Aurélie Godard (3), Françoise HOUDAYER (4), ELODIE GAUTIER (5), Christel THAUVIN-ROBINET (6), Massimiliano ROSSI (7), Damien SANLAVILLE (7), Patrick EDÉRY (7), Alice MASUREL (8), Nolwenn JEAN (9), Julien THEVENON (9), Jean-Baptiste RIVIERE (10), Pierre ANCET (11), Anne-Sophie LAPOINTE (12), Paulette MORIN (13), Lorraine JOLY (14), Sophie BEJEAN (15), Aurore PELISSIER (15), Christine PEYRON (15), Laurence FAIVRE (6), Elodie CRETIN (16)

1. Centre d'Investigation Clinique, INSERM 1431 et EA 3189, CHRU Besançon, laboratoire de Sociologie et d'Anthropologie (LASA), Besançon, France
2. Faculté de psychologie, EA 3071, Université de Strasbourg, Strasbourg, France
3. Centre d'Investigation Clinique, INSERM 1431, CHRU Besançon, Besançon, France
4. service de génétique, centre de référence des anomalies du développement, CHU Bron, Lyon, France
5. coordination FHU Translad, CHU Dijon, Dijon, France
6. Centre de génétique, Hôpital d'enfants, CHU Dijon, EA4271GAD, Dijon, France
7. service de génétique, centre de référence des anomalies du développement, CHU Lyon, LYON, France
8. service de génétique, centre de référence des anomalies du développement, CHU Dijon, Dijon, France
9. service de génétique, centre de référence des anomalies du développement, Hôpital d'enfants, CHU Dijon, EA4271GAD, Dijon, France
10. Molecular genetic lab, CHU Dijon, EA4271GAD, université Bourgogne, , France
11. laboratoire de philosophie, université Bourgogne, Dijon, France
12. Eurordis, association usagers, Paris, France
13. association Française des Syndromes de Marfan et Apparentés, AFSMa, Paris, France
14. Centre de génétique, psychologue, Hôpital d'enfants, CHU Dijon, EA4271GAD, Dijon, France
15. laboratoire d'économie de la santé, LEDI UMR 6307, UB – CNRS, université Bourgogne, Dijon, France
16. Centre d'Investigation Clinique, INSERM 1431 et EA 481, CHRU Besançon et Université de Franche-Comté, Besançon, France

**Mots clefs :** séquençage à haut débit, éthique, attentes, résultats, recherche qualitative

**Résumé :**

Le Séquençage à Haut Débit d'Exome (SHD-E) se développe en France dans le domaine du diagnostic génétique. La mise en place en place de cet examen médical, qui entraîne des modifications dans l'exercice de la médecine, engage des questionnements éthiques et psychosociaux vis à vis des patients et de leurs parents. Ces derniers vivent souvent depuis plusieurs années une errance diagnostique. Si le SHD-E multiplie les chances de poser un diagnostic par la découverte d'un variant pathogène, cette technique produit aussi des résultats négatifs, et entraîne l'augmentation du nombre de résultats incertains. Ainsi cette avancée scientifique génère de l'incertitude et de la complexité qui soulèvent des interrogations, aussi bien quant aux attentes et représentations des parents vis à vis du SHD-E d'une part, qu'au contenu de l'annonce des résultats et leurs réactions. Comment les parents anticipent-ils les différentes catégories de résultats possibles ? Comment les parents mais aussi les médecins vivent-ils l'annonce des résultats ?

L'étude SEQUAPRE, financée par la Fondation Maladies Rares, menée par les Centres de Références Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs de Dijon et Lyon depuis janvier 2015, a pour objectif de décrire et comprendre les attentes des parents en amont du SHD-E, et leurs réactions en aval de l'annonce des résultats ainsi que les difficultés rencontrées par les médecins prescripteurs. Pour atteindre ces objectifs, une recherche en méthodes mixtes a été déployée, alliant questionnaires et entretiens.

Le volet qualitatif sera décrit dans cette communication. Soixante entretiens individuels sont prévus dans les centres de Dijon et de Lyon par une sociologue et une psychologue après la consultation d'annonce des résultats, avec les deux parents des enfants ayant bénéficié d'un SHD-E, puis auprès du médecin généticien les accompagnants dans cette démarche. L'analyse intermédiaire des données discursives a été réalisée à partir de 38 entretiens semi-dirigés à partir de 18 situations, réparties en trois catégories de résultats, 6 avec résultat positif, 7 avec résultat incertain, 5 avec résultat négatif. Celle-ci montre que les attentes cristallisent des préoccupations éthiques et psychosociales variées propres aux différents temps du parcours de vie : avoir un nom de maladie, comprendre l'origine de la pathologie, atténuer la culpabilité, orienter la prise en charge, prendre une décision face à un désir de grossesse. En filigrane de ces préoccupations apparaît, dans ces situations, un questionnement éthique de fond sur la normalité à laquelle parents comme médecins sont confrontés de manière renouvelée par ce dispositif qui ouvre des possibilités de soin inédites.

**CS47 : L'éthique appliquée en génétique, méthode d'aide à la décision en situation d'incertitude ?**

**Auteurs :**

Marie-Antoinette VOELCKEL (1), Isabelle PELLEGRINI (2), Rafaëlle BERNARD (3), Tiffany BUSA (4), Emilie CONSOLINO (4), Catherine GENSOLLEN (4), Brigitte JARRET (4), Audrey MALLET (4), Chantal MISSIRIAN (5), Baptiste MORIZOT (6), Karine N'GUYEN (4), Marie-Christine PELLISSIER (5), Nicole PHILIP (4), Sabine SIGAUDY (4), Ségolène VERGOZ (7), Hélène ZATTARA (4), Aurélie FABRE (8), Perrine MALZAC (9)

1. Département de génétique clinique , Hôpital Timone enfants, Marseille, France
2. Service d'endocrinologie, diabète, maladies métaboliques , Hôpital de la Conception, Marseille, France
3. Laboratoire de génétique moléculaire , Hôpital Timone enfants , Marseille, France
4. Département de génétique clinique , Hôpital Timone enfants , Marseille, France
5. Laboratoire de cytogénétique , Hôpital Timone enfants , Marseille, France
6. CEPERC / UMR 7304 , Aix-Marseille-Université, Marseille, France
7. Service de néonatalogie, Hôpital de la Conception, Marseille, France
8. Laboratoire de cytogénétique , Hôpital Timone enfants, Marseille, France
9. Espace Ethique Méditerranéen / UMR 7268 ADES , Hôpital Timone enfants, Marseille, France

**Mots clefs :** éthique appliquée, décision, incertitude

**Résumé :**

Les séances d'éthique appliquée sont peu connues en France alors qu'elles se sont progressivement développées dans les pays anglo-saxons ainsi que dans certains pays Européens, selon le modèle de « moral case deliberation » (1). Elles sont considérées comme une méthode d'amélioration des pratiques soignantes à l'hôpital. Elles présentent un intérêt pédagogique en favorisant l'accroissement des connaissances et de la réflexion éthique grâce au retour d'expérience réalisé. Elles favorisent le dialogue entre les professionnels, les amenant à s'écouter et à construire une compréhension mutuelle, ce qui améliore le climat de travail et indirectement le soin. L'apparition de telles séances d'éthique appliquée témoigne d'une évolution dans la conception de l'éthique avec un passage d'une éthique théorique – avec des experts et des comités éthiques s'intéressant à des problématiques générales, comme l'information, le consentement ou la recherche – à une éthique pratique, appliquée, traitant des situations éthiquement sensibles, du quotidien, rencontrées par les soignants.

Un travail d'éthique appliquée est mis en œuvre au sein du Département de Génétique Médicale de Marseille, en collaboration avec l'Espace Ethique Méditerranéen (AP-HM), depuis février 2012. Lors de chaque réunion, une fois par mois, un dossier est présenté et étudié pendant 1H30, selon une méthodologie de débat éthique (moral case deliberation). Les acteurs des secteurs cliniques de génétique médicale (génétique constitutionnelle, oncogénétique et centre de diagnostic prénatal), participent aux débats, qu'ils soient généticiens cliniciens, biologistes, psychologues ou conseillers en génétique. Depuis septembre 2015, d'autres personnalités ont rejoint le groupe (philosophe, juriste, conseillère conjugale, représentant d'association, infirmier...).

Les éléments d'analyse des situations proposées sont co-construits lors des prises de paroles, en lien avec les principes de respect de l'autonomie, de bienfaisance, de non malfaisance et de justice décrits par Childress et Beauchamp (2). Les textes d'encadrement juridique (Loi n°2011-814 du 7 juillet 2011; Arrêté du 27 mai 2013 ; Décret n°2013-527 du 20 juin 2013) sont aussi pris en compte (3).

Nous nous appuyerons sur l'exemple d'une situation où nous avons analysé la prise en charge d'une famille (conseil génétique, diagnostic prénatal, diagnostic préimplantatoire), depuis 1996 et sur deux générations.

Nous tenterons de montrer comment cette approche d'éthique réflexive permet :

- de prendre en considération la complexité de la démarche de conseil génétique et de la mise en œuvre des analyses moléculaires
- d'aborder de façon mutuellement enrichissante la difficile question de la prise de décision en situation d'incertitude
- et d'en tirer des enseignements pour éclairer nos pratiques les plus actuelles d'exploration du génome (ACPA, NGS)

(1) Dauwse L, Stolper M, Widdershoven G, Molewijk B. Prevalence and characteristics of moral case deliberation in Dutch health care. *Med Health Care Philos.* 2014 Aug;17(3):365–75

(2) Tom L. Beauchamp, James F. Childress  
*Principles of Biomedical Ethics*, Oxford University Press, 2008

(3) <http://www.legifrance.gouv.fr/>

**CS48 : Les premières fois dans la consultation de génétique**

**Auteurs :**

Béatrice CHILDS (1)

1. GENETIQUE MEDICALE, INSTITUT IMAGINE, PARIS, France

**Mots clefs :** première fois, consultation de génétique, présence d'un analyste, plateforme technique, historicisation, consultation thérapeutique.

**Résumé :**

**« Premières fois » dans la consultation de génétique**

Les « premières fois » dans la consultation de génétique pèsent d'un poids certain dans l'agenda de la consultation hospitalière. Bien souvent longues et éprouvantes, dans un lieu singulier qui conjugue aujourd'hui consultations, plateforme technique et équipes de recherche, elles nécessitent une attention et une concentration particulières de la part des généticiens (et de tous les participants), mais aussi des familles qui ont attendu des mois pour ce tout premier rendez-vous.

Si la polysémie de la formule n'est pas sans rappeler les débuts de la vie amoureuse, c'est bien de commencement, d'origine, mais aussi de transmission dont il sera là essentiellement question. Du récit de la maladie par le patient ou ses parents, au regard du clinicien qui tente de saisir *le trait organisateur* de la pathologie, émerge progressivement dans la consultation la possibilité de nommer la maladie, et d'engager -ou pas- des recherches génétiques. Avec comme objectif de border un réel affolant, resté (parfois) trop longtemps in-nommé.

La présence de l'analyste souhaitée dès ces premières consultations, au même moment et dans le même lieu, et organisée par l'équipe médicale depuis plus de 20 ans au sein de la consultation génétique de Necker (Institut Imagine) - offre la possibilité au consultant de déplier les associations et représentations imaginaires dans lesquelles le sujet se trouve pris, bien souvent à son insu. Et d'amorcer une historicisation subjective, qui pourra être poursuivie dans un après-coup de cette première consultation, afin de ne pas se trouver « gélifié » (Lacan) dans ce qui pourrait émerger du plateau technique hyper moderne et performant.

Au travers de diverses observations cliniques au sein du service de génétique médicale, dans un lieu où priment pourtant expertise médicale et urgence diagnostique, il s'agira de comprendre comment et à quelles conditions ces toutes premières consultations se révèlent *déjà thérapeutiques*.

---

# COMMUNICATIONS ORALES SIMULTANÉES

SESSION SIMULTANÉE 9 : CORRÉLATIONS GÉNOTYPE/PHÉNOTYPE  
ET THÉRAPIE

---

**CS49 : Analyse d'une cohorte de 355 patients avec ciliopathies rénales par une approche de séquençage ciblé**

**Auteurs :**

Emilie Filhol (1), Pauline Krug (2), Amandine Frigot (3), Albane Bizet (3), Marion Failler (3), Evelyne Huynh-Cong (3), Valentina Grampa (3), Christine Bole-Feysot (4), Patrick Nitschke (5), Nicolas Garcelon (1), Celine Huber-Lequesne (3), Isabelle Perrault (3), Valérie Cormier-Daire (3), Jean-michel Rozet (3), Olivia Boyer (2), Alexandre Benmerah (3), Rémi Salomon (2), Cécile Jeanpierre (3), Tania Attié-Bitach (3), Corinne Antignac (3), Sophie Saunier (3)

1. Inserm UMR-1163, Institut Imagine, Paris, France

2. Service de néphrologie pédiatrique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France

3. Inserm UMR-1163, Institut Imagine, Paris, France

4. plateforme génomique, Institut Imagine, Paris, France

5. plateforme Informatique, Institut Imagine, Paris, France

**Résumé :**

La néphronoptose (NPH) est une néphropathie héréditaire caractérisée par une fibrose interstitielle massive et la formation de kystes, et l'une des principales causes d'insuffisance rénale terminale chez l'enfant. Elle appartient au groupe des ciliopathies, maladies multi-systémiques liées à un dysfonctionnement du cil primaire, un organelle sensoriel présent à la surface de la plupart des cellules de vertébrés régulant des voies de signalisation essentielles au développement et à l'homéostasie tissulaire. Des anomalies extrarénales sont retrouvées chez 50% des patients, notamment oculaires, neurologiques, hépatiques et/ou squelettiques. A ce jour, des mutations dans 20 gènes (NPHP1-20) ont été identifiées chez des patients atteints de formes syndromiques ou isolées, permettant d'expliquer 50% des cas. La plupart de ses gènes codent pour des protéines ciliaires, impliqués dans la régulation des composés ciliaires à la base du cil ou lors du transport intraflagellaire (IFT). En raison de l'hétérogénéité génétique et phénotypique majeure des ciliopathies, nous avons développé une approche de séquençage haut débit ciblant > 1200 gènes codant des protéines localisées au cil ou participant à sa fonction (ciliome).

L'analyse d'une cohorte de 355 individus a permis d'identifier des mutations dans 58% des cas (57/107 NPH isolées, 149/245 NPH syndromiques). Parmi les 206 individus mutés, 66% des cas sont porteurs de mutations dans des gènes déjà impliqués dans les ciliopathies, dont 49% dans un gène NPHP. Notamment, des mutations ont été retrouvées dans tous les gènes codant les IFT-A impliqués dans le transport rétrograde (21% des cas). De façon inhabituelle, ces patients présentent une atteinte glomérulaire et une hypertension artérielle associées à la NPH. Parmi les nouveaux gènes (34% des cas), nous avons identifié deux gènes codant des sous unités IFT-B (IFT172 et IFT54) impliqués dans le transport antérograde, mutés chez des patients avec respectivement un syndrome de Jeune et de Senior-Loken, et le gène CEP83 codant un composant des appendices distaux ciliaires nécessaires à l'ancrage et à l'assemblage du cil, mutés chez des patients avec une NPH précoce associée à une déficience intellectuelle. Par ailleurs, nous avons confirmé la variabilité phénotypique associée aux mutations des gènes de ciliopathie, avec l'identification de mutations du gène de NPH infantile, NEK8/NPHP9, chez des fœtus avec hypodysplasie rénale kystique syndromique. De plus, dans 6 cas, des mutations récessives ont été identifiées dans deux gènes ciliaires, suggérant que cette association puisse influencer la sévérité de l'atteinte rénale et des autres symptômes associés. Enfin, dans 10% des cas des variations de signification inconnues, parfois bi-alléliques ont été identifiées, rendant difficile le diagnostic et nécessitant des études fonctionnelles pour valider leur pathogénicité.

**CS50 : Apport de l'amplification multiplex puis séquençage NGS des 5 gènes majeurs de Cardiomyopathie Hypertrophique : Spectre des mutations et CNVs chez 1259 patients.**

**Auteurs :**

Flavie ADER (1), Natacha Caillaud (1), Christine Vegas (1), Laurence Demay (1), Karen Gaudon (1), Sarah Lebreton (1), Pascale Richard (1)

1. UF Cardiogénétique et Myogénétique, Service de Biochimie Métabolique, Paris, (F-75013), France, Hôpitaux Universitaires de la Pitié- Salpêtrière- Charles Foix, , Paris, France

**Mots clefs :** Cardiomyopathies, Séquençage haut débit

**Résumé :**

Les Cardiomyopathies hypertrophiques (CMH), de prévalence estimée à 0,2 %, sont dues à une atteinte de la structure de la cellule cardiaque. Environ 60 % des CMH sont des formes familiales avec une transmission autosomique dominante et une pénétrance incomplète. Une vingtaine de gènes ont été impliqués mais cinq gènes (*MYH7*, *MYBPC3*, *TNNT2*, *TNNI3*, *MYL2*) représentent la majorité des diagnostics (90%). L'objectif de ce travail est d'évaluer la performance d'une approche de séquençage haut débit après amplification multiplex concernant la détection des anomalies incluant les mutations (SNVs, Indel) et les variations du nombre de copies (CNVs) chez 1259 patients.

L'analyse de 1259 patients porteurs de CMH a été réalisée par amplification multiplex des gènes *MYH7*, *MYBPC3*, *TNNT2*, *TNNI3*, *MYL2* (HCM MASTRTM Assay, Multiplicom). Le test comporte 132 amplicons (22,7Kb) dont 16 fragments contrôlés permettant la détection des CNVs. Les patients sont séquencés par séries de 96 sur MiSeq avec une Flow Cell V3.0 de 2X 300 cycles (Illumina). L'analyse bio-informatique est réalisée avec le logiciel SeqPilot pour la détection des variants génétiques usuels (SNVs). La recherche de CNVs est réalisée par un algorithme comparant les couvertures de séquençage des amplicons après normalisation intra-série et inter-patients (Genodiag, IPEPS-ICM).

L'analyse de ces 5 gènes a abouti à l'identification d'un SNV pathogène chez 37,8% des patients (N=476). 90% des patients (N=429) sont porteurs d'une unique mutation dominante et 10% (N=47) porteurs de deux mutations, soit hétéroalléliques dans le même gène, soit dans deux gènes distincts. Le gène *MYBPC3* est le plus fréquemment impliqué avec 57,6% des patients mutés, puis *MYH7* (26,2%), *TNNT2* (9,0%), *TNNI3* (5,6%), *MYL2* (1,6%). Un total de 271 mutations différentes a été identifié dont 147 dans *MYBPC3*, 84 dans *MYH7*, 20 dans *TNNT2*, 13 dans *TNNI3* et 7 dans *MYL2*. Les patients présentant des génotypes complexes représentent 10% des patients mutés dont 43 % porteurs de digénisme dans les deux gènes *MYH7/MYBPC3*. La détection de CNVs, bien que jamais publiée, permet de confirmer que ce mécanisme mutationnel peut être à l'origine de la CMH et permet d'augmenter la proportion de patients diagnostiqués par l'analyse de ces 5 gènes.

Le séquençage haut débit après amplification multiplex des 5 gènes majeurs impliqués dans les CMH permet d'apporter un diagnostic rapide chez environ 40% des patients par l'analyse simultanée de 96 patients. L'avantage de cette approche est de détecter aussi bien les mutations classiques (SNVs, Indel) que les remaniements plus complexes impliquant un ou plusieurs exons. Cet apport permet d'élargir le spectre des anomalies moléculaires responsables de CMH et ainsi d'augmenter la proportion d'identification de mutations chez les patients permettant un meilleur conseil génétique aux familles.

**CS51 : Chondrodysplasies avec luxations multiples : corrélations génotype-phénotype dans une série de 29 patients**

**Auteurs :**

Emmanuelle RANZA (1), Céline HUBER (1), Nicolas LEVIN (1), Geneviève BAUJAT (1), Christine BOLE-FEYSOT (2), Patrick NITSCHKE (3), Cécile MASSON (4), Yasemin ALANAY (5), Lihad AL GAZALI (6), Pierre BITOUN (7), Odile BOUTE (8), Nursel ERCIOGLU (9), Laurence FAIVRE (10), Alper GEZDIRICI (11), Diana JOHNSON (12), Udhaya KOTTECHA (13), Meriel McENTAGART (14), Ercan MIHCI (15), Banu NUR (16), Laurence PERRIN (17), Chloé QUELIN (18), Pauleen TERHAL (19), Beyhan TUYSUZ (20), Valérie CORMIER-DAIRE (1)

1. Service de Génétique, Institut Imagine, INSERM UMR1163 Hôpital Necker Enfants Malades (AP-HP), Paris, France
2. Plateforme de génomique, Fondation IMAGINE, Paris, France
3. Plateforme de bioinformatique, Université Paris Descartes, Paris, France
4. Plateforme de bioinformatique, Fondation IMAGINE, Paris, France
5. Pediatric Genetics Unit, Department of Pediatrics, Acibadem University, School of Medicine, Istanbul, Turquie
6. Department of Pediatrics, College of Medicine and Health Sciences, UAE University, Al Ain, Émirats arabes unis
7. Génétique médicale, Hôpital Jean Verdier, Bondy, France
8. Génétique Clinique, Hôpital Jeanne de Flandre, Lille, France
9. Department of pediatrics-genetics, Marmara university medical school, Istanbul, Turquie
10. Centre de Génétique, Hôpital d'Enfants, Dijon, France
11. Medical Genetics, Kanuni Sultan Suleyman Training and Research Hospital, Istanbul, Turquie
12. Sheffield Clinical Genetics Service, Sheffield Children's hospital, Sheffield, Royaume Uni
13. Center of Medical Genetics, Sir Ganga Ram hospital, New Dehli, Inde
14. Medical Genetics, St George's Healthcare NHS Trust, London, Royaume Uni
15. Division of Pediatric Genetics, Akdeniz University School of Medicine, , Antalya, Turquie
16. Division of Pediatric Genetics, Marmara university medical school, Antalya, Turquie
17. Unité de Génétique Clinique, Hopital Robert Debré, Paris, France
18. Génétique Médicale, Hôpital Sud, Rennes, France
19. Medical Genetics, Wilhelmina Childrens hospital, Lundlaan 6 3584 EA AB, Utrecht, Pays-Bas
20. Department of Pediatric Genetics, Istanbul University, Cerrahpasa Medical Faculty, Istanbul, Turquie

**Mots clefs :** chondrodysplasies avec luxations multiples, corrélations génotype-phénotype, protéoglycanes

**Résumé :**

Le groupe des chondrodysplasies avec luxations multiples comprend plus de 7 entités différentes, caractérisées par une petite taille, des luxations articulaires, des anomalies des mains et de la colonne vertébrale.

Parmi elles, le syndrome de Larsen (LRS), lié au gène *FLNB*, est transmis sur un mode autosomique dominant. Les dysplasies de Desbuquois de types 1 et 2 (DBQD1/DBQD2), la dysplasie spondylo-épiphysaire avec dislocations, la chondrodysplasie avec luxations, de type gPAPP, le syndrome de Larsen-like avec anomalie cardiaque et le syndrome de Larsen de la Réunion sont transmis sur un mode autosomique récessif, par mutations de *CANT1*, *XYLT1*, *CHST3*, *IMPAD1*, *B3GAT3* et *B4GALT7*, respectivement. Ces gènes codent pour des protéines impliquées dans la synthèse/sulfatation des protéoglycanes.

Afin d'établir des corrélations génotype-phénotype, nous avons collecté les échantillons de 29 patients, répondant aux critères suivants : 1) petite taille < -2.5 DS, 2) luxation d'au moins une grande articulation 3) anomalies des mains/de la colonne vertébrale. Cette série comprend 2 fœtus et 27 patients de 1 à 30 ans. 21 sont issus d'unions consanguines.

Les diagnostics initiaux étaient : DBQD1 (4), DBQD2 (7), LRS (2), LRS de la Réunion (1), Catel-Manzke (2) et sans diagnostic précis (13).

Nous avons réalisé, après séquençage d'exome, l'analyse bioinformatique ciblée des gènes connus dans les chondrodysplasies avec luxations multiples, et de gènes impliqués dans des spectres cliniques proches dont *CHSY1* (brachydactylie préaxiale de Temtamy), *B3GAT6* (SEMD avec hyperlaxité, type 1), *KIF22* (SEMD avec hyperlaxité, type leptodactylique), *TGDS* (syndrome de Catel-Manzke), *DSE*, *CHST14* et *PLOD1* (EDS musculo-contractionnel et cyphoscoliotique), ainsi que *SLC26A2* (dysplasie diastrophique). Les variants retrouvés ont été confirmés par séquençage Sanger.

Nous avons identifié des mutations chez 17/29 individus (58 %) : *FLNB* (1) *CANT1* (3), *XYLT1* (2), *CHST3* (1), *B3GAT3* (3), *B4GALT7* (1), *B3GALT6* (1), *KIF22* (1), *TGDS* (1), *CHSY1* (1) et *DSE* (1). Une délétion complète d'*IMPAD1* homozygote a été retrouvée chez un patient, élargissant le spectre des mutations décrites. Le diagnostic clinique initial a été confirmé dans 8/16 cas.

L'analyse phénotypique des patients montre des éléments cliniques discriminants. Des anomalies caractéristiques de la main (présence et localisation d'os surnuméraires) sont retrouvées pour les atteintes liées à *FLNB*, *CANT1*, *TGDS*, *CHSY1* et *IMPAD1*. D'autres signes cliniques sont fréquents, tels que fente palatine, dysmorphie, obésité, retard de développement, ou radiologiques (atteinte épiphysaire, métaphysaire et/ou vertébrale), dont l'association oriente le diagnostic clinique. Nous proposons un schéma récapitulatif des éléments-clés de ces pathologies.

Enfin, cette étude souligne un mécanisme physiopathologique commun pour la plupart de ces entités impliquant des protéines jouant un rôle dans la synthèse ou la modification post-traductionnelle des protéoglycanes.

**CS52 : L'invalidation de la Kallikréine 5 corrige les anomalies cutanées du syndrome de Netherton dans un modèle de souris double knockout**

**Auteurs :**

Laetitia Furio (1), Georgios Pampalakis (2), Iacovos Michael (3), Andras Nagy (3), Georgia Sotiropoulou (4), Alain Hovnanian (5)

1. INSERM UMR 1163, Laboratoire des maladies génétiques cutanées, Institut Imagine des maladies génétiques, Paris, France, Paris, France

2. Department of Pharmacology, , Patras, Grèce

3. Samuel Lunenfeld-Tanenbaum Research Institute, Mount Sinal Hospital, Toronto, Canada

4. Department of Pharmacology, University of Patras, Patras, Grèce

5. INSERM UMR1163, service de Génétique, Institut Imagine, Hôpital Necker, Paris, France, Paris, France

**Mots clefs :** Syndrome de Netherton (SN), SPINK5, LEKTI, Kallikreine 5, souris double knockout, barrière cutanée, inflammation cutanée, génodermatose

**Résumé :**

Le syndrome de Netherton est une maladie génétique cutanée récessive rare qui peut être létale en période néonatale. Elle se caractérise par une érythrodermie néonatale avec desquamation excessive de la peau, une inflammation cutanée marquée, des manifestations allergiques cutanées, respiratoires et digestives avec des taux d'IgE sériques souvent très élevés et des anomalies spécifiques des cheveux (cheveux bambous). Le SN est du à des mutations perte de fonction du gène *SPINK5* (Serine Protease Inhibitor of Kazal type 5) codant pour l'inhibiteur de protéases à sérine LEKTI (Lympho-Epithelial Kazal-Type related Inhibitor). Le SN est une maladie orpheline pour laquelle il n'existe pas de traitement spécifique. La perte d'expression de LEKTI conduit à une activité excessive des kallikréines (KLKs) épidermiques et à un clivage protéolytique anormal et prématuré de la couche cornée. Les souris invalidées de façon constitutive pour *Spink5* reproduisent le phénotype SN, montrent une activité protéasique augmentée des KLK5 et KLK7 dans l'épiderme et meurent en quelques heures d'une anomalie sévère de la barrière cutanée. Les souris transgéniques sur-exprimant *Klk5* reproduisent le phénotype SN, au contraire des souris transgéniques sur-exprimant *Klk7* dont le phénotype reste modéré sans détachement cutané.

Dans cette étude, nous avons développé un modèle de souris double knockout dans lequel *Klk5* et *Spink5* ont été invalidés afin d'étudier la contribution de *Klk5* dans le phénotype SN. Nous montrons que l'invalidation de *Klk5* chez les souris déficientes en *Lekti* prévient la létalité néonatale, rétablit l'architecture épidermique et empêche l'inflammation cutanée. Spécifiquement, l'invalidation de *Klk5* réduit l'activité protéolytique de l'épiderme et en particulier de ses protéases cibles, KLK7, KLK14 et ELA2. Nous montrons également que les desmosomes et les cornéodesmosomes restent intacts et que la différenciation épidermique est en grande partie rétablie chez les animaux double knockout pour *Klk5* et *Spink5*. Enfin, nous montrons l'absence d'inflammation cutanée et de signes d'allergie dans la peau des souris double knockout. En particulier, les niveaux d'expression d'IL-1beta, d'IL17A et de *Tslp* sont normalisés. Ces résultats démontrent que l'invalidation *in vivo* de *Klk5* permet d'empêcher le développement néonatal des anomalies de la peau *Spink5* knockout. Ces résultats illustrent le rôle essentiel de la régulation des protéases dans l'homéostasie épidermique et l'inflammation, et démontent que l'inhibition de KLK5 représente une cible thérapeutique majeure, mais probablement non exclusive, pour le SN.

**CS53 : Survie et phénotypes associés aux mutations TGFBR1 et TGFBR2 : l'expérience du Montalcino Aortic Consortium.**

**Auteurs :**

Maud LANGEOIS (1), Guillaume JONDEAU (2), Jacques ROPERS (3), Ellen REGALADO (4), Alan BRAVERMAN (5), Arturo EVANGELISTA (6), Julie DE BACKER (7), G. TEIXIDO (6), Laura MUINO MOSQUERA (7), Sophie NAUDION (8), Cécile ZORDAN (9), Takayuki MORISAKI (10), Hiroko MORISAKI (10), Yskert VON KODOLITSCH (11), Sophie DUPUIS-GIROD (12), Shaine MORRIS (13), Richmond JEREMY (14), Sylvie ODENT (15), Myrtille SPENTCHIAN (2), Mélodie AUBART (2), Catherine BOILEAU (16), Reed PYERITZ (17), Dianna MILEWICZ (18)

1. CNMR Syndrome de Marfan et apparentés, CHU BICHAT, Paris, France
2. CNMR Syndrome de Marfan et apparentés, CHU BICHAT, PARIS, France
3. CNMR Syndrome de Marfan et apparentés, CHU Ambroise Paré, BOULOGNE-BILLAN COURT, France
4. Service de Génétique, UHealth, TEXAS, Etats-Unis
5. Service de Cardiologie, Washington University, Washington, Etats-Unis
6. Service de Cardiologie, Hospital Universitari Vall d'Hebron, BARCELONA, Espagne
7. Service de Génétique, Pediatrics Ghent University Hospital, GENT, Belgique
8. Service de Génétique Médicale, CHU BORDEAUX, BORDEAUX, France
9. Service de Génétique, CHU BORDEAUX, BORDEAUX, France
10. Service de Cardiologie, National Cerebral and Cardiovascular Center, OSAKA, Japon
11. Service de Cardiologie, UKE - Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf, HAMBURG, Allemagne
12. Service de Génétique, CHU LYON, LYON, France
13. Service de Cardiologie, Texas Children's Hospital, HOUSTON, Etats-Unis
14. Service de Cardiologie, University of Sydney and Royal Prince Alfred Hospital, Sydney, Etats-Unis
15. Service de Génétique Clinique, CHU RENNES, RENNES, France
16. Département de Génétique, CHU BICHAT, PARIS, France
17. Département de Génétique, University of Pennsylvania School of Medicine, Philadelphia, Etats-Unis
18. Service de Cardiologie, UHealth, HOUSTON, Etats-Unis

**Résumé :**

Le pronostic des patients porteurs d'une mutation dans les gènes *TGFBR1* et *TGFBR2* a été diversement apprécié. Les recommandations de prise en charge des patients porteurs de mutations dans ces gènes sont basées sur des données limitées et probablement biaisées par la sévérité des phénotypes décrits initialement.

Cette étude vise à déterminer les différences d'expressions phénotypiques entre des patients porteurs de mutations dans ces deux gènes.

Les données cliniques et génétiques ont été collectées par l'intermédiaire d'un questionnaire remplis par 13 centres experts à travers le monde.

157 patients porteurs d'une mutation dans le gène *TGFBR1* et 240 patients porteurs d'une mutation dans le gène *TGFBR2* ont été inclus. Ces patients sont issus de 188 familles.

Les signes extra-aortiques sont similaires dans les deux groupes : tortuosité artérielle (54% vs 54%), hypertélorisme (26%/31%), lnette bifide (26% vs 33%), craniosynostose (9% vs 11%), palais ogival (35% vs 48%). Leur fréquence est bien moindre que celle rapportée dans la série initiale de Loeys et al. (N Engl J Med 2006)

De même, la fréquence des événements artériels (chirurgie ou dissection d'une artère de moyen calibre), est identique dans les deux groupes et relativement rare (10% vs 9%).

Enfin, la survie des patients est meilleure dans cette étude qu'initialement décrite (survie supérieure à 75% à 75 ans), identique pour les gènes *TGFBR1* et les gènes *TGFBR2* (figure).

En conclusion les patients porteurs d'une mutation dans les gènes *TGFBR1* ou *TGFBR2* ont un phénotype clinique similaire avec des signes extra-aortiques chez la moitié des patients (tortuosité artérielle, hypertélorisme, vergetures, lnette bifide, palais ogival, craniosynostose, atteintes squelettiques).

Dans cette cohorte, le pronostic est bien meilleur que celui initialement rapporté dans la littérature.

**CS54 : Révision clinique du syndrome SHORT associé à des mutations du gène PIK3R1: recommandation pour la recherche génétique et le suivi**

**Auteurs :**

Magali Avila (1), David A. Dymont (2), Christel Thauvin-Robinet (1)

1. EA4271 , Université de Bourgogne, Dijon, France 2. Children's Hospital of Eastern Ontario Research Institute, University of Ottawa, Ottawa, Canada

**Mots clefs :** Syndrome SHORT, RCIU, retard de croissance, résistance à l'insuline, diabète, lipoatrophie

**Résumé :**

Le syndrome SHORT a été défini historiquement par son acronyme: retard de croissance (short stature (S)), hyperlaxité des articulations et/ou hernie inguinale (H), énophtalmie (ocular depression (O)), anomalie de Rieger (R) et retard à l'éruption dentaire (teething delay (T)). Plus récemment plusieurs groupes de recherche ont identifié des mutations du gène *PIK3R1* comme responsable du syndrome SHORT. La connaissance de l'étiologie moléculaire du syndrome SHORT a permis une révision clinique du phénotype. Les phénotypes détaillés de 32 individus atteints d'un syndrome SHORT et présentant une mutation de *PIK3R1*, incluant huit nouveaux patients, ont été étudiés pour définir le syndrome de façon plus précise et les indications de l'analyse moléculaire de *PIK3R1*. Les signes majeurs décrits dans l'acronyme du syndrome n'étaient pas présents de façon systématique et seulement la moitié des cas (52%) avait au moins 4 signes classiques. Les signes cliniques commun observés dans la cohorte incluaient le RCIU < 10<sup>ème</sup> percentile, le retard de croissance postnatal, la lipoatrophie et la dysmorphie faciale. Les anomalies de la chambre antérieure et la résistance à l'insuline ou le diabète ont été observé mais ne sont pas toujours présents. Les signes moins spécifiques ou signes mineurs du syndrome SHORT incluent le retard à l'éruption dentaire, une peau fine et fripée, un retard de langage, une hyperlaxité articulaire ou hernie inguinale. Devant le risque élevé de diabète, une surveillance régulière du glucose est nécessaire. Une échographie cardiaque, un bilan ophtalmologique et de l'audition est également recommandé. Un suivi régulier de la croissance et du développement en particulier du langage est également recommandé pendant l'enfance. Cette étude a permis de définir les signes majeurs et mineurs du syndrome SHORT, permettant d'orienter la prescription de l'étude du gène *PIK3R1*.

---

# COMMUNICATIONS ORALES SIMULTANÉES

SESSION SIMULTANÉE 10 :

EXPLORATIONS MOLÉCULAIRES ET FONCTIONNELLES

---

**CS55 : Analyses génétiques et fonctionnelles dans le cadre de la maladie de Rendu-Osler**

**Auteurs :**

Sophie GIRAUD (1), Céline AUBOIROUX (1), Christine MALLET (2), Béatrice CHAMBE (1), Cécile CHRETIEN (1), Cécile VERCHERAT (3), Gaëtan LESCA (1), Sophie DUPUIS-GIROD (4), Cyril GOIZET (5), Sylvie ODENT (6), Odile BOUTE (7), Laurence FAIVRE-OLIVIER (8), Emmanuelle TILLET (9), Sabine BAILLY (10), Alain CALENDER (1)

1. Service de Génétique Moléculaire et Clinique, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
2. INSERM, U1036, Commissariat à l'Énergie Atomique et aux Energies Alternatives, Laboratoire Biologie du Cancer et de l'Infection, Institut National de la santé et de la Recherche Médicale, Institut de Recherches en Technologies et Sciences pour le Vivant Université Grenoble-Alpes, Grenoble, France
3. INSERM 1052 - UMR CNRS 5286 , Centre de Recherche en Cancérologie de Lyon (CRCL) , Lyon, France
4. Service de Génétique et Centre de Référence pour la Maladie de Rendu-Osler, Hospices Civils de Lyon - Groupe Hospitalier Est, Lyon, France
5. Service de génétique médicale, CHU de Bordeaux-GH Pellegrin, Bordeaux, France
6. Service de génétique clinique , CHU de rennes - Hôpital Sud, Rennes, France
7. Service de génétique clinique, CHRU de Lille - Hôpital Jeanne de Flandre, Lille, France
8. Centre de génétique, CHU de Dijon - Complexe du Bocage - Université de Bourgogne, Dijon, France
9. INSERM, U1036, Commissariat à l'Énergie Atomique et aux Energies Alternatives, Laboratoire Biologie du Cancer et de l'Infection, Institut National de la santé et de la Recherche Médicale, Institut de Recherches en Technologies et Sciences pour le Vivant Université Grenoble-Alpes, Grenoble, France
10. INSERM, U1036, Commissariat à l'Énergie Atomique et aux Energies Alternatives, Laboratoire Biologie du Cancer et de l'Infection, Institut National de la santé et de la Recherche Médicale, Institut de Recherches en Technologies et Sciences pour le Vivant Université Grenoble-Alpes, Grenoble, France

**Mots clefs :** ACVRL1, ENG, mutagenèse dirigée

**Résumé :**

La maladie de Rendu Osler (RO), à transmission autosomique dominante, est caractérisée par des malformations artérioveineuses responsables de télangiectasies, d'épistaxis et parfois de complications viscérales essentiellement pulmonaires et hépatiques. La maladie de RO est considérée comme certaine, probable ou suspecte selon le nombre de critères cliniques présents. Les mutations des gènes *ENG* et *ACVRL1* sont responsables de 90% des cas de maladie de RO. Le dépistage génétique peut aider au diagnostic de la maladie lorsque la clinique est incomplète et permet une meilleure prise en charge du patient et de sa famille.

Nous avons repris les résultats des analyses des gènes *ENG* et *ACVRL1* réalisées chez 1565 cas index. Nous avons retrouvé une mutation respectivement chez 89% patients (n=747) avec une maladie de RO certaine, 51% (n=229) avec une maladie probable et 16% (n=44) avec une maladie suspecte. Nous avons identifié 245 variants différents dans *ENG* dont 65 faux sens et 232 dans *ACVRL1* dont 114 faux sens. La plupart de ces faux sens ne sont pas rapportés dans la database internationale ou leur effet n'est pas décrit. D'autre part, 39 cas index étaient porteurs simultanément de deux variants non décrits comme des polymorphismes.

Des analyses *in silico* ont été réalisées sur les variants n'entraînant pas un décalage du cadre de lecture; des études de coségrégation ont été réalisées quand nous disposions de plusieurs apparentés. Quand cela était possible nous avons étudié l'effet sur l'ADNc de 22 variants situés dans les introns ou aux extrémités des exons et confirmé un effet sur l'épissage pour 10 d'entre eux ainsi que pour un variant faux sens situé à la fin de l'exon 11 de *ENG*. En collaboration avec l'équipe INSERM U1036, des tests fonctionnels ont été développés pour étudier l'expression, la localisation et les conséquences sur la voie de signalisation en réponse au BMP9, le ligand de ALK1, des variants faux-sens des gènes *ENG* et *ACVRL1* : 34 variants de *ENG* et 85 de *ACVRL1* ont été générés par mutagenèse dirigée, transfectés dans des fibroblastes murins (cellules 3T3) et leurs activité fonctionnelle testée sur un élément de réponse aux BMP (BRE) par un dosage luciférase. Nous avons pu ainsi vérifier que 61 mutations du gène *ACVRL1* et 16 du gène *ENG* avaient une fonction altérée avec une absence d'expression à la membrane, un défaut de liaison à BMP9 ou un défaut de réponse à BMP9. Parmi les 40 variants dont la fonction n'est apparemment pas altérée, seuls 4 d'entre eux n'ont jamais été rapportés dans des databases de variants et sont présents de façon isolée chez des patients au diagnostic certain.

L'analyse des gènes *ENG* et *ACVRL1* conduit régulièrement à l'identification de nouvelles mutations non répertoriées. Les tests fonctionnels sont un outil majeur pour une interprétation correcte des résultats génétiques et la mise en place d'un conseil génétique dans les familles de RO.

**CS56 : Les mutations tronquantes du gène MSL3 causent un nouveau syndrome reconnaissable**

**Auteurs :**

Ange-Line Bruel (1), Tugce Aktas Ilik (2), Maria Felicia Basilicata (2), Ineke van der Burgt (3), Jenny Morton (4), Salima El Chehaddeh-Djebbar (5), Alexander Hoischen (3), Christian Gilissen (3), Lissenka Vissers (3), Rolph Pfundt (3), Christel Thauvin-Robinet (1), Han G Brunner (3), Jean-Baptiste Rivière (1), Laurence Faivre (1), Asifa Akhtar (2), Julien Thevenon (1)  
1. FHU-TRANSLAD, Équipe EA42271 GAD, Université Bourgogne-Franche Comté/CHU Dijon, Dijon, France  
2. Immunobiology and Epigenetics, Max Planck Institute, Freiburg im Breisgau, Allemagne  
3. Department of Human Genetics, Radboud university medical center, Nijmegen, Pays-Bas  
4. Clinical Genetics Unit, Birmingham Women's Hospital, Birmingham, Royaume Uni  
5. Centre de génétique, CHRU Strasbourg, Strasbourg, France

**Mots clefs :** MSL3, déficience intellectuelle, épigénétique

**Résumé :**

Au cours de ces dernières années, les nouvelles technologies de séquençage haut-débit ont largement prouvé leur efficacité pour identifier les bases moléculaires des pathologies avec une grande hétérogénéité clinique et génétique, telles que les déficiences intellectuelles avec anomalies congénitales. Cependant, de nombreux résultats demeurent non-concluants car les corrélations génotype-phénotype sont limitées par la rareté de la récurrence de la maladie. La mise en place d'un réseau de partage des données international a permis d'augmenter les chances d'identifier d'autres patients avec un phénotype similaire et de mettre en évidence de nouveaux syndromes.

Nous rapportons ici le cas d'une jeune patiente présentant un retard de développement, une déficience intellectuelle modérée avec absence de langage, une dysmorphie faciale et une constipation sévère. Aucun syndrome connu n'était évoqué et les examens paracliniques et génétiques n'ont pas permis d'orienter le diagnostic. Un séquençage d'exome de cas index a donc été réalisé, sans permettre d'identifier de variant causal lors de l'analyse diagnostique. La ségrégation familiale de variations candidates a systématiquement été réalisée. Cette stratégie d'analyse a mis en évidence une variation *de novo* affectant sur un site accepteur d'épissage dans le gène *MSL3*. Des collaborateurs ont été contactés afin d'identifier des patients additionnels porteurs de mutation *de novo* et tronquante du gène *MSL3*. Ainsi, sept observations ont été collectées : 4 patients porteurs de mutations ponctuelles, 2 patientes porteuses de délétion emportant *MSL3*, un patient porteur d'une inversion chromosomique aboutissant à un transcrit de fusion en phase de *MSL3* et *GAB3*. L'étude phénotypique de ces patients a permis de retrouver des caractéristiques communes chez les patients porteurs de mutations ponctuelles, moins reconnaissables chez les patients porteurs d'anomalie chromosomique. *MSL3* est localisé sur le chromosome X et compose un complexe protéique régulateur transcriptionnel, fondamental dans le développement et responsable de l'acétylation spécifique de l'histone H4 sur sa lysine 16 (acH4K16). L'analyse des marques épigénétiques sur les cellules de patients a montré la diminution spécifique de la marque acH4K16. Seule la fonction enzymatique, et non l'assemblage du complexe était altérées.

Cette description correspond à la première association d'une anomalie unique de l'acétylation d'une marque histone dans une pathologie humaine.

**CS57 : Identification de nouveaux gènes dans l'infertilité masculine par séquençage exomique et validation par production de souris KO CRISPR/Cas9 et de mutants chez *T.brucei*.**

**Auteurs :**

Charles COUTTON (1), Clémentine Wambergue (1), Raoudha Zouari (2), Jessica Escoffier (3), Thomas Karaouzène (4), Véronique SATRE (1), Sylviane Hennebicq (5), Aminata Touré (6), Mélanie Bonhivers (7), Christophe Arnoult (8), Pierre RAY (4)

1. Laboratoire de Génétique Chromosomique, CHU Grenoble, Grenoble, France
2. Clinique des Jasmin, Clinique des Jasmin, Tunis, Tunisie
3. Department of Genetic Medicine and Development, University of Geneva, Geneve, Suisse
4. UF de Biochimie Génétique et Moléculaire, CHU Grenoble, Grenoble, France
5. UF de biologie de la reproduction, Grenoble, CHU Grenoble, Grenoble, France
6. Inserm U1016-CNRS UMR8104-Université Paris Descartes, Institut Cochin, PARIS, France
7. Fundamental Microbiology and Pathogenicity (MFP), CNRS UMR5234, Bordeaux, France
8. Equipe , Institut Albert Bonniot, Grenoble, France

**Mots clefs :** Infertilité, génétique, exome, CRISPR, Trypanosoma, flagelle

**Résumé :**

L'infertilité masculine concerne plus de 20 millions d'hommes à travers le monde et représente un véritable enjeu de santé publique. Bien que multifactorielle, l'infertilité masculine a une composante génétique importante. Dans le cadre de notre projet «MAS FLAGELLA» nous recrutons des patients présentant une infertilité primaire liée à un défaut des mouvements spermatiques causée par des anomalies morphologiques multiples des flagelles (phénotype MMAF). Nous avons démontré précédemment qu'environ 28% des patients MMAF présentaient des mutations du gène *DNAH1*, un gène codant pour un bras interne de dynéine spécifique de l'axonème spermatique. Ces résultats suggèrent qu'environ 70% des patients restant sont porteurs de mutations dans d'autres gènes de la structure flagellaire.

A partir d'une cohorte de patients infertiles avec phénotype MMAF recrutés principalement à Tunis, un séquençage exomique a été réalisé pour 73 patients (Genopole, Evry, France). Après mise en place d'un pipeline bio-informatique spécifique, 18 gènes candidats ont été identifiés chez 43 patients (59%) comme potentiellement impliqués dans le phénotype de nos patients. On retient en particulier 8 gènes pour lesquels des mutations tronquantes homozygotes ont été identifiés chez au moins 2 patients chez un total de 31 individus (42%). Parmi eux, 5 patients (7%) présentent une mutation pathogène dans le gène *DNAH1* confirmant l'implication de ce gène dans le phénotype MMAF. Pour l'ensemble des gènes candidats identifiés nous avons mis en place un schéma original de validation fonctionnelle systématique comprenant notamment la production de souris KO par la technique de CRISPR/Cas9 et de mutants chez *Trypanosoma brucei* par RNAi.

Nous avons initié la caractérisation de 2 gènes appelés ici FLAG 1-2 retrouvés mutés chez 6 (8%) et 2 patients (3%) respectivement. Pour chacun de ces gènes, nous avons identifié des mutations tronquantes homozygotes, confirmées par séquençage SANGER. L'étude de leur expression par RT-qPCR chez l'homme et la souris a démontré une expression très majoritaire voire spécifique dans le testicule. Grâce à la technique CRISPR/Cas9 nous avons obtenu en moins de 4 mois, des souris mutées pour ces deux gènes. La présence du phénotype MMAF chez ces souris KO homozygotes confirme l'implication des gènes FLAG1 et 2 dans le phénotype. De même, l'étude des mutants chez *T.brucei* de *flag1* et 2 montre une désorganisation sévère de l'axonème flagellaire. L'analyse par immunofluorescence chez ces mutants a pu démontrer la position axonémale de ces 2 protéines.

Ce travail démontre que le séquençage exomique est efficace pour identifier des gènes candidats à partir de cohortes ciblées d'hommes infertiles et que les mutations identifiées peuvent être efficacement validées grâce à la création de souris KO par la technique de CRISPR/Cas9 et de mutants *T.brucei*.

Ce projet a été financé en partie par la Fondation Maladies Rares et l'Agence Nationale de la Recherche (APP PRTS 2014).

**CS58 : Les mutations dans le gène MYT1 causent le Syndrome de Goldenhar et confirment le lien avec la voie de l'acide rétinolique.**

**Auteurs :**

Marie BERENGUER (1), Estelle LOPEZ (1), Angèle TINGAUD SEQUEIRA (1), Sandrine MARLIN (2), Sabine CHARRON (1), Annick TOUTAIN (3), Françoise DENOYELLE (4), Arnaud PICARD (5), Guilaine MATHIEU (1), Harmony DE BELVALET (1), Benoit ARVEILER (6), BABIN Patrick J. (1), Didier LACOMBE (6), Caroline ROORYCK (7)

1. Maladies Rares : Génétique et Métabolisme (MRGM) U 1211, Université de Bordeaux, Bordeaux, France

2. Département de Génétique, Centre de Référence des Surdités Génétiques, Hôpital Universitaire Necker-Enfants-Malades, Paris, France

3. Service de Génétique, Centre Hospitalier Universitaire, Hôpital Bretonneau, Tours, France

4. Service d'ORL pédiatrique et de chirurgie cervicofaciale, Centre de Référence des malformations ORL rares, Hôpital Universitaire Necker-Enfants-Malades, Paris, France

5. Service de chirurgie maxillo-faciale, Hôpital Universitaire Necker-Enfants-Malades, Paris, France

6. (1) Maladies Rares : Génétique et Métabolisme (MRGM) U 1211, (2) Service de Génétique Médicale, Centre de Référence Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs, (1) Université de Bordeaux, (2) CHU Bordeaux, Bordeaux, France

7. (1) Maladies Rares : Génétique et Métabolisme (MRGM) U 1211, (2) Service de Génétique Médicale, Centre de Référence Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs, (1) Université de Bordeaux, (2) CHU Bordeaux, Bordeaux, Bordeaux, France

**Mots clefs :** Syndrome de Goldenhar, MYT1, OAVS, acide rétinolique, ATRA, RARB, cellules de la crête neurale **Résumé :**

Le Syndrome de Goldenhar (SG) ou Spectre Oculo-Auriculo-Vertébral (OAVS) est un défaut de développement embryonnaire impliquant les premier et deuxième arcs branchiaux. Ce syndrome polymalformatif est caractérisé par des anomalies asymétriques de l'oreille, de l'œil, des vertèbres et par une microsomie hémifaciale. Bien que de nombreuses anomalies chromosomiques aient été recensées, aucun gène spécifique n'a, pour l'heure, été impliqué dans la survenue de ce syndrome. Parmi divers facteurs environnementaux, l'acide rétinolique (AR) a déjà été décrit comme un agent tératogène menant à phénotype OAVS chez l'homme. En outre, la voie de l'acide rétinolique est impliquée dans de nombreux processus du développement embryonnaire précoce et des mutations dans des gènes de cette voie peuvent conduire à des malformations cranio-faciales.

Dans la présente étude, nous avons identifié par séquençage d'exome une mutation non-sens *de novo* (c.25C > T, p.Arg9\*) dans le gène *MYT1* chez un patient présentant un SG typique. Ce gène code pour le facteur de transcription de la myéline type 1 qui est fortement exprimé dans le système nerveux central en développement et est décrit comme une cible possible de l'AR. L'étude de notre cohorte de 169 patients OAVS a révélé une mutation faux-sens dans *MYT1* (c.314C > T, p.Ser105Leu) chez un autre patient, qui a été héritée de son père.

Les études fonctionnelles par invalidation transitoire de *myt1a*, l'homologue de *MYT1* chez le poisson zèbre, ont conduit à des altérations des cartilages cranio-faciaux. En outre, nos études cellulaires ont confirmé un lien étroit entre l'AR, MYT1 et RARB, le récepteur bêta de l'AR. En effet, le traitement au « all-trans AR » a conduit à l'augmentation de l'expression endogène de *MYT1*, confirmant ainsi que *MYT1* est une cible de l'AR. De plus, la surexpression de *MYT1* sauvage conduit à une régulation négative de l'expression de *RARB* non observée lors de la transfection des vecteurs *MYT1* faux-sens et non-sens. Ces résultats permettent d'argumenter l'implication de *MYT1* dans la voie de l'acide rétinolique et confirment le lien entre AR et OAVS.

En conclusion, nous présentons *MYT1* comme le premier gène impliqué dans le syndrome de Goldenhar, au sein de la voie de l'acide rétinolique.

**CS59 : Intérêt des approches complémentaires (minigènes, ARN du patient, prédictions bioinformatiques) pour l'identification des mutations d'épissage : bilan sur 400 variations des gènes MLH1/MSH2 et BRCA1/BRCA2**

**Auteurs :**

Pascaline Gaildrat (1), Gaia Castelain (1), Sophie Krieger (2), Stéphanie Baert-Desurmont (1), Daniela Di Giacomo (1), Sandrine Caputo (3), Audrey Killian (1), Jean-Christophe Thery (1), Isabelle Tournier (1), Céline Bonnet (1), Hélène Tubeuf (1), Samira Akilil (1), Grégoire Davy (2), Aurélie Drouet (1), Myriam Vezain (1), Etienne Rouleau (3), Claude Houdayer (4), Thierry Frebourg (1), Mario Tosi (1), Alexandra Martins (1)

1. Inserm U1079 et Service de Génétique, Centre Normand de Génomique Médicale et Médecine Personnalisée, Inserm, Université de Rouen et CHU de Rouen, Rouen, France

2. Laboratoire de Biologie clinique et oncologique, Centre François Baclesse et Université de Caen, Caen, Inserm U1079 et Service de Génétique, Centre Normand de Génomique Médicale et Médecine Personnalisée, Centre François Baclesse et Université de Caen, Inserm, Université de Rouen et CHU de Rouen, Caen, France

3. Service de Génétique, Institut Curie, Paris, Paris, France

4. Service de Génétique, Institut Curie, Université Paris Descartes, Paris, France

**Mots clefs :** mutations d'épissage, test fonctionnel minigène, classification des VSI, prédictions bioinformatiques, syndrome de Lynch, cancers héréditaires du sein et de l'ovaire

**Résumé :**

L'interprétation de variations nucléotidiques de signification biologique inconnue (VSI) représente un défi majeur en génétique médicale, et ce notamment en oncogénétique. Une fraction importante de ces VSI peut être pathogène du fait de l'altération du processus d'épissage de l'ARN pré-messager. Depuis 2006, nous avons développé et optimisé un test fonctionnel d'épissage, basé sur l'utilisation de minigènes, dans le cadre du diagnostic moléculaire des 2 formes majeures de prédisposition aux cancers, le syndrome de Lynch et les cancers héréditaires du sein et de l'ovaire. Les principaux avantages de cet essai sont l'utilisation d'un matériel biologique toujours disponible dans les laboratoires de diagnostic (ADNg) et une interprétation facilitée des résultats, notamment du fait de son caractère monoallélique. En collaboration avec les laboratoires d'oncogénétique, cet essai nous a permis d'étudier plus de 400 VSI exoniques et introniques, identifiées dans les gènes *MLH1/MSH2* et *BRCA1/BRCA2*. Plus de 20% de ces variations sont responsables d'altérations partielles ou totales de l'épissage. La très bonne concordance entre ces données et celles établies à partir de l'ARN des patients, quand disponible, démontre la pertinence du test minigène. Ces résultats sont intégrés progressivement dans les bases de données publiques et contribuent à la classification des VSI. Ces données ont également permis de confirmer la bonne fiabilité des prédictions bioinformatiques des sites d'épissage. De plus, nous avons entrepris d'évaluer de nouvelles méthodes *in silico* de prédictions des altérations des éléments de régulation de l'épissage. Dans ce but, les effets sur l'épissage d'un grand nombre de variations exoniques, à distance des sites d'épissage, ont été analysés dans plusieurs « exons modèle » et ces données expérimentales ont ensuite été confrontées aux prédictions générées par les différentes méthodes bioinformatiques. Cette étude a permis de montrer qu'un nombre important de variations dans ces exons est susceptible de modifier la régulation de l'épissage et que ces effets sont concordants, en grande partie, avec les prédictions générées par un nouvel algorithme. L'ensemble de ces données souligne la complémentarité des différentes approches expérimentales et l'intérêt potentiel de nouvelles prédictions bioinformatiques dans les stratégies de stratification des variations pour les tests fonctionnels et, ce particulièrement dans le contexte du développement du séquençage à haut débit, dont un des principaux défis sera l'interprétation des VSI.

**CS60 : Apparentement et consanguinité dans le panel 1000 Génomes.**

**Auteurs :**

Mourad Sahbatou (1), Steven Gazal (2), Marie-Claude Babron (3), Emmanuelle Génin (4), Anne-Louise Leutenegger (3)

1. Génétique des populations et épidémiologie , Fondation Jean Dausset CEPH, 75010 Paris, France

2. IAME, UMR 1137, INSERM, 75018 Paris, France

3. UMR 946, Variabilité Génétique et Maladies Humaines, INSERM, 75010 Paris, France

4. UMR 1078, Génétique, Génomique fonctionnelle et Biotechnologies, INSERM, 29218 Brest, France

**Mots clefs :** Apparentement, consanguinité, panel 1000 génomes, admixture/métissage

**Résumé :**

Le projet 1000 Génomes, largement utilisé aujourd'hui, fournit une source unique de données de séquençage du génome pour les études de génétique des populations et pour les études sur les facteurs génétiques impliqués dans les maladies humaines. La dernière phase de ce projet (phase III) comprend les données de séquences de plus de 2 500 individus provenant de 26 populations d'Afrique, Europe, Asie et Amérique. Bien que les relations d'apparentement entre les individus aient été recherchées dans certaines populations lors de la phase I du projet, la consanguinité de ce panel n'a jamais été étudiée. Nous proposons donc ici une étude complète de l'apparentement et de la consanguinité des individus de la phase III, en nous appuyant sur les polymorphismes fréquents issus des données de séquençage. Pour estimer la consanguinité, nous avons utilisé FSuite, une suite logicielle que nous avons développée pour les études en populations supposées homogènes. Le panel 1000 Génome comprenant des individus dont les parents sont issus de deux populations différentes, en particulier en Amérique (Africains-Américains, Portoricains, ...), nous avons donc commencé par tester par simulations le comportement de la méthode dans un contexte de populations mélangées. Nous avons pu montrer que les estimations des taux de consanguinité étaient robustes. Nos résultats sur le panel montrent un niveau étonnamment élevé de consanguinité: près d'un quart des personnes présentent de la consanguinité, avec pour 4% d'entre eux de la consanguinité forte (similaire ou supérieure à celle attendue pour des enfants de cousins germains). Des individus consanguins ont été trouvés dans chacune des 26 populations et dans certaines populations, cela concerne plus de la moitié des individus. Nous avons également détecté de l'apparentement (jusqu'à et y compris cousins germains) dans 227 paires d'individus. Nous proposons donc maintenant une liste des individus du panel 1000 Genomes sans apparentement ni consanguinité proche que nous conseillons d'utiliser pour les estimations et comparaisons de fréquences alléliques, génotypiques ou haplotypiques.



8<sup>ÈMES</sup>

ASSISES DE GÉNÉTIQUE HUMAINE ET MÉDICALE  
LYON, CITÉ INTERNATIONALE 3, 4 ET 5 FÉVRIER 2016

[www.assises-genetique.org](http://www.assises-genetique.org)

COMMUNICATIONS  
ORALES FLASH

COMPLIANT APPROVED BY



Infos générales & inscriptions: [mary.abbas@mcocongres.com](mailto:mary.abbas@mcocongres.com)  
Infos sponsoring & partenariat: [natalie.ruxton@mcocongres.com](mailto:natalie.ruxton@mcocongres.com)



---

# COMMUNICATIONS ORALES FLASH

SESSION FLASH 1

---

**CF01 : Diagnostic des encéphalopathies épileptiques précoces : intérêt de l'approche par panel NGS.****Auteurs :**

Rodolphe Dard (1), Mélanie Jennesson Lyver (2), Emilie Landais (3), Elise Yazbeck (4), Christelle Mangeonjean (1), Nathalie Bednarek Weirauch (5), Pascal SABOURAUD (4), Dominique Gaillard (1), Martine Doco-Fenzy (1), Jacques Motte (2), Anne-Sophie Lebre (1)

1. Service de génétique, CHU Reims, Hôpital Maison Blanche, REIMS, F-51092, France, Reims, France
2. Service de pédiatrie et Centre de référence des épilepsies rares et de la sclérose tubéreuse de Bourneville, CHU Reims, American Memorial Hospital, REIMS, F-51092, France, Reims, France
3. Plate-forme Régionale de Biologie Innovante, CHU Reims, Hôpital Maison Blanche, REIMS, F-51092, France, Reims, France
4. Services de pédiatrie A et B, CHU Reims, American Memorial Hospital, REIMS, F-51092, France, Reims, France
5. Services de pédiatrie A et B, CHU Reims, American Memorial Hospital, Reims, France

**Mots clefs :** Epilepsie, Encéphalopathie épileptique, panel NGS, Dravet, SCN1A

**Résumé :**

Les encéphalopathies épileptiques (EE) précoces (syndromes de West, Ohtahara, Aicardi, et Dravet) sont des pathologies neuropédiatriques graves entraînant une épilepsie sévère et une déficience intellectuelle (DI) souvent importante. Une grande partie des EE précoces sont d'origine génétique avec plus de 60 gènes rapportés à ce jour. L'IRM cérébrale et le bilan métabolique sont pertinents pour diagnostiquer les étiologies métaboliques et les malformations cérébrales. En revanche, le diagnostic des autres EE précoces reste difficile et l'errance diagnostique peut être longue.

Le service de neuropédiatrie du CHU de Reims est site constitutif du centre de référence « Epilepsies rares et Sclérose tubéreuse de Bourneville » Ce centre est multi-sites (Paris-Necker, Paris-Salpêtrière, Lille, Reims et Strasbourg) avec une file active de 260 patients au CHU de Reims (estimation Pyramig) et de nombreux patients en attente de diagnostic moléculaire. Neuropédiatres et généticiens du CHU de Reims se sont donc associés pour développer un panel NGS de 35 gènes d'EE précoces (190kb de région cumulée). Le panel EP35 a été éprouvé de manière rétrospective sur une cohorte de 75 patients (63 patients sans diagnostic et 12 témoins positifs). 35% des patients avaient eu au moins un gène du panel testé antérieurement en séquençage Sanger et/ou MLPA. Ce panel pouvant être utile pour d'autres formes d'épilepsie (syndromes de Doose [ou épilepsie myoclonique-astatique], Lennox-Gastaut, GEFS+), nous avons donc inclus quelques patients avec ces syndromes.

Nous avons analysé les résultats à la recherche de SNV et de CNV. Nous avons mis en évidence un SNV pathogène chez 13/63 (20,6%) des patients dans 9 gènes : *STXBP1*, *SCN2A*, *SCN8A*, *SCN9A*, *GABRA1*, *GABRG2*, *KCNB1*, *KCNQ2* et *PCDH19*. Un CNV pathogène a été identifié par NGS chez 1/63 (1,5%) avec délétion complète du gène *GABRD* en 1p36. Les mutations ponctuelles, délétions complètes ou partielles de gènes ont été identifiées chez les 12 témoins positifs.

Ce projet a permis de valider l'intérêt de l'approche par panel NGS pour le diagnostic des encéphalopathies épileptiques précoces d'origine génétique. Ce panel permet de remplacer avantageusement les approches Sanger et MLPA, en termes de rendement diagnostique, délai de rendu mais aussi du point de vue médico-économique. Le rendement diagnostique de notre étude a souffert des biais d'une cohorte rétrospective. La revue de la littérature suggère que le panel EP35 devrait permettre un rendement de l'ordre de 25% en prospectif. Cette approche nous a permis aussi d'élargir le spectre phénotypique pour les mutations des gènes *GABRG2* (Doose sans DI) et *SCN2A* (Lennox-Gastaut avec Déficit Immunitaire Commun Variable).

Après l'IRM cérébrale et le bilan métabolique, le panel EP35 entre donc en 1<sup>ère</sup> ligne dans la stratégie diagnostique des EE précoces au CHU de Reims. Un panel complémentaire en cours de conception devrait permettre d'améliorer ce rendement diagnostique.

**CF02 : Caractérisation fonctionnelle d'un nouveau gène candidat de la néphronoptise in vitro et in vivo dans le modèle de poisson zèbre****Auteurs :**

Marion Delous (1), Gweltas Odyé (1), Valentina Grampa (1), Line De Grande (1), Anita Becker-Heck (2), Emilie Filhol (1), Pauline Krug (3), Flora Silbermann (1), Bertrand Knebelmann (3), Andreas Sailer (2), Pierre Saint-Mézard (2), Alexandre Benmerah (1), Sophie Saunier (1)

1. Inserm U1163, Institut Imagine, Paris, France

2. Novartis, Institut de Recherche Biomédicale, Bâle, Suisse

3. AP-HP, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France

**Mots clefs :** néphronoptise, cil, polarité, zebrafish

**Résumé :**

La néphronoptise (NPH) est une néphropathie tubulo-interstitielle chronique de transmission autosomique récessive, représentant la première cause génétique d'insuffisance rénale terminale chez l'enfant. Elle se caractérise par un épaississement de la membrane basale tubulaire, une fibrose massive et l'apparition de kystes à la jonction cortico-médullaire. Dans 50% des cas, elle est associée à des atteintes extra-rénales, telles qu'une rétinite pigmentaire, une fibrose hépatique ou un *situs inversus*. La NPH est génétiquement hétérogène, avec à ce jour près de 20 gènes identifiés (*NPHP1-20*) qui codent pour des protéines localisées au cil primaire, ce qui caractérise la NPH comme un ciliopathie. Le cil primaire est un organelle constitué de microtubules, présent à la surface de la plupart des cellules de vertébrés, qui joue le rôle de plateforme de signalisation, assurant la transduction de signaux extra-cellulaires importants au cours du développement et de l'homéostasie tissulaire (Hedgehog, Wnt). Les protéines impliquées dans la NPH assurent soit le transport intraflagellaire (IFT) le long du cil soit la fonction de barrière de filtration à la base du cil. Certaines protéines NPHP sont aussi localisées aux jonctions cellule-cellule, où elles participent à la maintenance de la polarité apico-basale.

Par séquençage d'exome total, nous avons identifié une mutation faux-sens homozygote (c.806 C > T, p.P269L) dans le gène *ANKS3*, dans une famille de trois enfants présentant une NPH tardive avec fibrose hépatique. *ANKS3* code pour une protéine cytosolique qui interagit avec d'autres NPHP localisées dans le compartiment Inversine (*ANKS6*, *NEK8* and *INVS*) ou à la zone de transition (*NPHP1*) au niveau du cil. Toutefois, *ANKS3* ne semble pas être présent dans le cil primaire mais plutôt à la base au niveau du corps basal dans les fibroblastes et sous forme d'agrégats cytoplasmiques apicaux dans les cellules tubulaires rénales IMCD3. Nous avons montré que la mutation p.P269L affecte l'interaction de *ANKS3* avec *NEK8* et *NPHP1*, perturbe la biogenèse du compartiment Inversine, et entraîne une augmentation de la taille des cils dans les fibroblastes de patients et dans les cellules IMCD3 invalidées pour *Anks3* et réexprimant *ANKS3-P269L-GFP*. *In vivo*, la lignée mutante poisson zèbre *anks3* présente des défauts de latéralité dus à des défauts de motilité des cils de la vésicule de Kupffer, organe transitoire à l'origine de l'asymétrie droite-gauche. De plus, *in vitro*, la mutation p.P269L altère la formation des jonctions serrées et la polarité apico-basale en cultures 2D et 3D, phénotypes observés dans les cellules invalidées pour *NPHP1*.

Pour conclure, l'ensemble des résultats démontrent l'effet pathogène de la mutation faux-sens du gène *ANKS3* dans la régulation de la biogenèse du compartiment Inversine et dans la morphogenèse épithéliale, processus qui garantissent l'intégrité de l'épithélium rénal.

**CF03 : LA MÉDECINE PERSONNALISÉE EN PÉRIODE PRÉNATALE, L'ÉTONNANTE PERSPECTIVE DE FEMMES ENCEINTES DU QUÉBEC****Auteurs :**

Chantal Bouffard (1), Gabrielle Lapointe (1), Régen Drouin (2)

1. Service de génétique, Laboratoire de recherche et de formation transdisciplinaire en génétique, médecines et sociétés, département de pédiatrie, Faculté de médecine et des sciences de la santé, Université de Sherbrooke, Sherbrooke, Canada
2. Service de génétique, Département de pédiatrie, Centre hospitalier universitaire de la Faculté de médecine de l'Université Laval, Québec, Canada

**Mots clefs :** Diagnostic prénatal, diagnostic prénatal non invasif, perspective des patients, sociométrique, bioéthique, santé et société, anthropologie médicale

**Résumé :**

Dans la prochaine décennie, la synergie de la médecine personnalisée (MP) et des avancées génomiques, technologiques et bioinformatiques entraînera de profonds changements dans la pratique du diagnostic prénatal (DPN). Les micropuces et le séquençage de nouvelles générations généreront une quantité sans précédent d'informations sur le génome des fœtus. Du test ciblé au séquençage complet, il sera possible d'offrir différentes alternatives aux femmes enceintes concernant les informations qu'elles pourraient connaître sur l'enfant à venir. Le diagnostic prénatal non invasif (DPNI) sur les cellules fœtales pourra être offert directement à toutes les femmes enceintes, en dehors du contexte médical ou encore *via* Internet. Malgré des avantages indéniables, le glissement du DPN de la sphère médicale à la sphère sociale, pose des problèmes cliniques, éthiques et sociaux allant de la prestation des services à la crainte d'un eugénisme «de nouvelle génération».

**OBJECTIF :** Connaître ce que les femmes enceintes veulent savoir sur le génome des fœtus qu'elles portent, et ce qu'elles pensent des alternatives proposées, du dépistage au séquençage complet.

**MÉTHODOLOGIE :** Après analyse de la littérature sur les problèmes induits par l'introduction de la MP et de la génomique dans le contexte du DPN et du DPNI, nous avons réalisé des entrevues avec 15 femmes enceintes, âgées de 18 à 34 ans, dont la grossesse a été conçue naturellement. Aucune d'entre elles ne devait être à risque de transmettre une maladie génétique. Après avoir informé les participantes des différents tests offerts, nous avons voulu connaître leur ouverture et leurs limites en matière d'information, mais aussi les critères médicaux, éthiques et sociaux sur lesquels elles basent leurs opinions et les services qui, d'après elles, devraient être pris en charge par les services de santé. Les données ont été traitées en recourant à l'analyse générale inductive des données qualitatives.

**RÉSULTATS :** Malgré la complexité des connaissances, les participantes ont bien compris les particularités et les implications des tests. Bien qu'elles soient conscientes de leurs dérives, elles demeurent conservatrices pour ce qu'elles voudraient pour elles-mêmes et leur enfant. Enfin, leurs raisonnements ouvrent la porte sur une perspective étonnante dans l'interprétation de la gravité des maladies, basée sur leurs impacts familiaux et sociaux.

**CONCLUSION :** Nos résultats nous entraînent à des années lumière «du désir d'enfant parfait» et de la crainte que les futurs parents ne pourront pas comprendre les informations qui leur permettront de prendre des décisions éclairées. Ils nous indiquent aussi à quel point il sera important d'agir pour le transfert des connaissances, l'organisation des services et la régulation des forces sociales et idéologiques qui pourraient faire pression sur les femmes enceintes, leurs conjoint(e)s, leurs familles et leurs communautés, dans les sociétés où elles auront leurs enfants.

**CF04 : Syndrome NAIAD (NLRP1-associated Auto-Inflammation with Arthritis and Dyskeratosis) : un nouveau syndrome par mutations dans le gène NLRP1.****Auteurs :**

Elodie Sanchez (1), Sylvie Grandemange (2), Pascale Louis-Plence (3), Frédéric Tran Mau Them (1), Didier Bessis (4), Christine Coubes (5), Eric Frouin (6), Marieke Seygers (7), Manon Girard (5), Valérie Costes (6), Michel Rodière (8), Aurélia Carbasse (8), Eric Jeziorski (8), Michel Mondain (9), Marjolaine Willems (1), Christian Jorgensen (3), Esther Hoppenreijns (7), Florence Apparailly (3), Isabelle Toutou (2), David Geneviève (1)

1. Département de Génétique Médicale et Inserm U1183, CHRU Montpellier et Institute of Regenerative Medicine and Biotherapies (IRMB), Montpellier, France
2. Laboratoire des maladies autoinflammatoires et Unité Inserm U1183, CHRU Montpellier et Institute of Regenerative Medicine and Biotherapies (IRMB), Montpellier, France
3. Unité Inserm U1183, Institute of Regenerative Medicine and Biotherapies (IRMB), Montpellier, France
4. Dermatologie, CHRU Montpellier, Montpellier, France
5. Département de Génétique Médicale, CHRU Montpellier, Montpellier, France
6. Laboratoire d'Anatomie et Cytologie Pathologiques, CHRU Montpellier, Montpellier, France
7. Pediatric rheumatology, UMC St Radboud, Nijmegen, Pays-Bas
8. Rhumatologie pédiatrique, CHRU Montpellier, Montpellier, France
9. Service d'ORL, CHRU Montpellier, Montpellier, France

**Mots clefs :** inflammasome, autoimmunité autoinflammation, arthrite, dyskératose

**Résumé :**

**Objectifs :** Les inflammasomes sont des complexes multi-protéiques qui détectent les agents pathogènes et déclenchent des mécanismes biologiques afin de contrôler l'infection. La famille NLRP joue un rôle clé dans le système immunitaire inné par la régulation de l'inflammation. Les gènes NLRPs, sont associés à des maladies auto-inflammatoires et des maladies auto-immunes. En effet, des mutations dans NLRP3 sont responsables des cryopyrinopathies héréditaires, tandis que les polymorphismes dans le gène NLRP1 sont associés à des maladies auto-immunes telles que le vitiligo ou la polyarthrite rhumatoïde. En outre, une mutation non synonyme de NLRP1 a été décrite dans une forme autosomique dominante héréditaire de dyskératose bénigne intraépithéliale mais sans inflammation clinique ou biologique. A la recherche de nouveaux gènes impliqués dans l'arthrite juvénile idiopathique, nous avons effectué des études génétiques dans une tentative d'identifier le gène responsable de cette maladie.

**Méthodes :** Nous avons combiné une cartographie par homozygotie et un séquençage d'exome dans une famille avec dyskératose, une maladie auto-inflammatoire avec inflammation biologique et de l'arthrite. En outre, dans une tentative d'identifier de nouveaux patients avec cette maladie, nous avons cherché de nouveaux patients avec un phénotype similaire en utilisant le réseau de Eurofever.

**Résultats :** Nous avons identifié une mutation homozygote non synonyme dans le gène NLRP1 chez deux cousins nés de parents apparentés originaires d'Algérie. La mutation (c.2176C > T; p.Arg726Trp) est localisée près de la répétition de la leucine-riche et n'est pas observée dans 190 chromosomes de volontaires sains originaires d'Algérie, ni dans les données Web (EXAC, EVS, 1000 genome). En cherchant des patients supplémentaires, nous avons identifié une mutation de novo hétérozygote (c.3641C > G, p.Pro1214Arg) chez une jeune fille d'origine néerlandaise avec un phénotype strictement similaire. Un traitement associant l'anakinra et l'isotrétinoïde et, a réussi à réduire les symptômes cutanés et la fièvre récurrente. **Conclusions :** Nous démontrons pour la première fois que NLRP1 est impliqué dans un nouveau syndrome autosomique récessif avec auto-inflammatoire que nous proposons d'appeler NAIAD (NLRP1-associated Auto-Inflammation with Arthritis and Dyskeratosis). Ces données, combinées à la littérature, mettent en évidence les rôles polymorphes de NLRP1 dans l'inflammation et l'immunité.

**CF05 : MutaScript : un nouvel outil permettant de calculer un score mutationnel pour chaque transcrit pouvant être utilisé comme filtre pour l'analyse des données NGS****Auteurs :**

Thomas Karaouzene (1), Nicolas Thierry-Mieg (2), Pierre Ray (1)

1. Equipe GETI , Institut Albert Bonniot - Inserm U823, Grenoble, France

2. Equipe BCM , TIMC-IMAG , Grenoble, France

**Mots clefs :** Séquençage haut-débit, Analyse bio-informatique, filtrage des données, exome, transcrits

**Résumé :**

Le séquençage nouvelle génération permet d'identifier la plupart des variants présents dans la séquence codante ou dans la totalité du génome d'un individu et est utilisé de plus en plus fréquemment dans le diagnostic des maladies rares. La difficulté principale est maintenant d'identifier la ou les mutations causales parmi les milliers de variants présents chez le patient. L'une des étapes les plus importantes de l'analyse devient alors le filtrage des données qui consiste à écarter les variants ne répondant pas à certains critères afin de réduire au maximum le nombre de variants candidats pour pouvoir identifier les facteurs génétiques pathologiques. Actuellement, en plus de critères qualité qui restreignent la recherche aux variants fiables, les filtres appliqués portent principalement sur l'impact du variant sur le transcrit et sa fréquence dans les bases de données. Dans bien des cas, après l'application de ces filtres, il reste encore plusieurs centaines ou milliers de variants sans candidat évident. Il est donc important d'augmenter le pouvoir discriminant des filtres existants ou de développer de nouveaux filtres afin de faciliter l'identification des variants causaux.

Partant du postulat que les transcrits fortement mutés dans la population générale ne remplissent probablement pas de fonctions critiques et ne sont donc pas impliqués dans des pathologies génétiques sévères, nous avons développé une formule permettant d'attribuer un « score mutationnel » aux transcrits, en s'appuyant sur des données publiques portant sur des individus considérés sains.

Spécifiquement, nous partons de l'ensemble des variants de la base ExAC auxquels nous avons appliqué plusieurs critères qualité (en particulier profondeur médiane  $\geq 20$ ). Nous obtenons ainsi  $\approx 7\,500\,000$  variants répartis sur  $\approx 75\,000$  transcrits codants. Nous avons ensuite prédit l'impact de chaque variant avec le logiciel Variant Effect Predictor. En tenant compte de la fréquence et de l'impact prédit de ces différents variants, nous calculons alors un score mutationnel "M" par transcrit. Ce score peut être utilisé comme nouveau filtre pour l'analyse des données NGS.

Nous avons appliqué ce score dans le cadre de la recherche de gènes entraînant une infertilité masculine. Pour une série de 71 exomes, après l'application de filtres classiques (couverture  $> 10$ , mutations prédites comme délétères et variants rares uniquement) nous obtenons un total de 23 937 variants homozygotes différents, pour une moyenne de 337 variants par patients. Filtrer les transcrits ayant un score  $M > 0$  (indiquant un fort taux mutationnel) a permis d'éliminer un total de 2954 variants. Nous passons ainsi à une moyenne de 295 variants par patients et estimons qu'après l'application des filtres habituels le score M permet d'éliminer environ 12% des variants restants et peut donc permettre de faciliter l'analyse bio-informatique du généticien.

**CF06 : Dépistage prénatal non invasif des trisomies 21, 18 et 13 sur ADN fœtal circulant dans le sang maternel: retour d'une expérience Française.****Auteurs :**

SAID El Mouatassim (1), Laure Raymond (2), Mohamed Taoudi (3), Djihene Ahmed-Chaouch (2), Karine Camili (2), Pascal Mouty (2), Gregory Egea (2)

1. , Biomnis, Lyon, France

2. Département de Génétique, Biomnis, Lyon, France

3. Département de Génétique, Biomnis, Lyon, France

**Mots clefs :** DPNI, Trisomie, Prénatal, Aneuploïdie

**Résumé :****INTRODUCTION:**

Les règles de bonnes pratiques en matière de dépistage et de diagnostic génétique prénatal de la trisomie 21 prévoient un dépistage avec dosage des marqueurs sériques maternels au 1er ou au 2ème trimestre de la grossesse (arrêté du 23 juin 2009 (JO du 3 juillet 2009) et la réalisation d'un caryotype prénatal dans le cas des grossesses présentant un risque  $\geq 1/250$ . La perte fœtale liée aux prélèvements invasifs (amniocentèse ou villosités échantillonnage) est estimée à 0,5-1%. L'application de séquençage nouvelle génération (NGS) au diagnostic prénatal non-invasif (DPNI) sur l'ADN fœtal circulant dans le sérum maternel constitue une des principales avancées dans la génétique humaine prénatale. Une simple prise de sang suffit pour réaliser un test prénatal pour rechercher les aneuploïdies les plus communes.

**OBJECTIFS:**

Dans cette étude, Nous rapportons notre expérience DPNI pour la détection des trisomies 21 (T21), 18 (T18) et 13 (T13) et de discuter les performances du test dans le cadre des grossesses à haut risque.

**METHODES:**

Entre Novembre 2014 et Octobre 2015, **1055** prélèvements sanguins provenant de femmes enceintes présentant un risque d'avoir une T21, T18 ou T13 ont été analysés. Le test a été réalisé par séquençage de la totalité de l'ADN libre circulant dans le plasma maternel (HiSeq 2500 ; Illumina). Des millions de fragments ont été séquencés, alignés et analysés pour obtenir une valeur chromosomique normalisée. Les résultats positifs ont été systématiquement vérifiés par un caryotype.

**RESULTATS:**

Au total, 1055 grossesses entre 12-30 semaines d'aménorrhée et présentant un risque de T21, T18 ou T13. Les indications pour la réalisation des tests ont été principalement liées aux anomalies des marqueurs sérique dans 857 cas (81,2%), un historique personnel de T21, T18 ou T13 dans 62 cas (5,9%), à un âge maternel avancé dans 32 cas (3 %), aux grossesses gémellaires dans 80 cas (7,6%) et à l'historique familial de translocation impliquant un des chromosomes analysés ainsi qu'aux hors bornage dans 24 cas (2,3%).

Les résultats ont démontré la présence de 26 fœtus porteurs d'une T21 et de 2 cas douteux T21. Seuls 19 résultats de T21 ont été confirmés par caryotype et 7cas restent toujours en attente confirmation. Les résultats DPNI ont montré la présence d'un seul fœtus porteur d'une T13 confirmée par les techniques d'hybridation in situ fluorescente. Trois résultats DPNI ont montré la présence d'une trisomie 18 dont un cas un faux positif et un en attente de confirmation. Des échecs ont été observés sur 3 cas dont 2 sur le même prélèvement et un sur deux prélèvements différents. Aucun faux négatif n'a été détecté.

**CONCLUSION:**

Le DPNI est un test de dépistage non invasif, fiable et utile pour le diagnostic des trisomies 21, 13 et 18 dans le sang maternel. Ce test élimine tout les risques de perte fœtale liés aux prélèvements invasifs et permet ainsi de mieux gérer les grossesses et anticiper la prise en charge des patientes.

**CF07 : Place de la PCR Digitale dans le Diagnostic Prénatal Non Invasif : Application au Diagnostic Prénatal des Maladies Monogéniques****Auteurs :**

Lucie Orhant (1), Yves Rozenholc (2), Isabelle Atlan (1), Caroline Beugnet (1), Nathalie Deburgrave (1), Gilles Tafuri (1), Aurélie Vasson (1), France Leturcq (1), Emmanuelle Girodon (1), Catherine Costa (1), Dominique Vidaud (1), Michel Vidaud (1), Marc Delpech (1), Thierry Bienvenu (1), Juliette Nectoux (1)

1. Service de Biochimie et Génétique Moléculaire, HUPC Hôpital Cochin, Paris, France

2. IRD UMR 216, Université Paris Descartes Sorbonne , Paris, France

**Mots clefs :** PCR digitale, ddPCR, Diagnostic Prénatal Non Invasif, DPNI, Maladies Monogéniques

**Résumé :**

La découverte de la présence d'ADN fœtal libre dans la circulation maternelle a inauguré l'ère du diagnostic prénatal non invasif (DPNI). L'ADN fœtal libre constitue seulement 5 à 10% de l'ADN libre total, et se retrouve donc mélangé au sein d'un ADN maternel largement majoritaire.

Au cours de ces dernières années, le déploiement de technologies innovantes permettant l'analyse de l'ADN fœtal, telles que la PCR digitale et le séquençage à haut débit, a permis la mise en place de divers tests dans la pratique clinique, tels que la détermination du sexe fœtal, la détermination du génotype RHD fœtal, ou encore le dépistage des aneuploïdies les plus fréquentes. Cependant, peu d'études concernant le DPNI des maladies monogéniques ont été rapportées à ce jour, principalement du fait de la complexité associée à la co-existence et à la prédominance de séquences d'ADN similaires d'origine maternelle.

Au sein du laboratoire de Biologie et Génétique Moléculaires de l'Hôpital Cochin, l'acquisition d'un système de PCR digitale en microgouttelettes permet de proposer en routine la détermination non invasive du sexe fœtal, le génotypage du Rhésus D fœtal, ainsi que le DPNI de l'achondroplasie, à partir de sang maternel. L'utilisation des propriétés quantitatives de la PCR digitale -en termes de sensibilité, spécificité et précision- en association avec le développement d'algorithmes originaux, permettent désormais la détection quantitative des mutations transmises par la mère, et donc d'étendre ces applications au DPNI des maladies monogéniques sévères, telles que la mucoviscidose, la neurofibromatose de type 1, l'hémophilie ou encore la myopathie de Duchenne. Les premiers résultats de ces travaux seront présentés.

**CF08 : Diagnostic prénatal non invasif : découverte incidentelle d'un myélome multiple.****Auteurs :**

Marion IMBERT-BOUTEILLE (1), Marion IMBERT-BOUTEILLE (1), Jean CHIESA (1), Jean-Baptiste GAILLARD (1), Véronique DORVAUX (2), Lucille ALTOUNIAN (3), Eve MOUSTY (4), Sanae FINGE (5), Pascal BOURQUARD (6), Eric LEGIUS (7), Peter VANDENBERGHE (7)

1. Génétique médicale et cytogénétique, CHRU de Nîmes, NIMES, France
2. Hématologie, CHR METZ-THIONVILLE Hôpital de Mercy, METZ, France
3. Génétique médicale et cytogénétique, CHR METZ-THIONVILLE Hôpital de Mercy, METZ, France
4. Centre Pluridisciplinaire de Diagnostic Prénatal - Gynécologie Obstétrique, CHRU de Nîmes, NIMES, France
5. Pôle Biologie - Immunologie, CHRU de Nîmes, NIMES, France
6. Hématologie, CHRU de Nîmes, NIMES, France
7. Département de génétique Humaine - Centre pour la Génétique Humaine, Université de Louvain - Hôpitaux Universitaires de Louvain, LOUVAIN, France

**Mots clefs :** Diagnostic prénatal, diagnostic prénatal non invasif, découvertes incidentelles, myélome multiple

**Résumé :**

Les techniques pangénomiques sont aujourd'hui utilisées pour le diagnostic prénatal non invasif (DPNI), réalisé sur l'ADN libre circulant (ADNlc) fœtal, via une simple ponction de sang maternel. S'il persiste encore des problématiques techniques liées à leur mise en œuvre, elles ne sont plus majeures. Ce sont bien les questionnements éthiques quant à leur généralisation et à la possibilité diagnostique de déséquilibres subchromosomiques voire de maladies géniques, bien au-delà des aneuploïdies fréquentes telles que la trisomie 13, 18 et 21, qui constituent une problématique centrale.

L'autre problème, moins évoqué, est la possibilité de découverte inattendue sur l'ADNlc maternel, analysé conjointement, totalement indépendante de l'objectif initial de l'analyse.

L'utilisation de cet outil comme moyen de dépistage est autorisé en France depuis octobre 2014, réalisé de manière confidentielle et non remboursé par l'assurance maladie à ce jour.

Nous décrivons ici le cas de Madame R., femme de 40 ans, enceinte et sans comorbidité, qui a bénéficié d'un DPNI prescrit au Luxembourg et réalisé en Belgique, dont l'indication initiale était l'âge maternel.

Sur l'échantillon de plasma maternel, l'analyse par séquençage massif en parallèle de l'ADNlc a révélé un profil de représentation pangénomique anormal et inhabituel comprenant une trisomie 1q, une trisomie 6p, une perte des chromosomes 13 et 14, une trisomie 15 et une délétion 22q. La multiplicité et l'association spécifique de ces anomalies, suggérant un déséquilibre chromosomique acquis, a conduit à la suspicion d'un myélome multiple (MM). Cette hypothèse diagnostique posée, une évaluation clinique, biologique et radiologique (IRM corps entier) a permis l'identification très probable d'un MM à chaîne légère lambda.

Cette observation s'ajoute aux 3 premiers cas mondiaux publiés de détection présymptomatique de tumeurs malignes maternelles via un DPNI. Elle rapporte le premier cas de MM.

Elle rappelle qu'une réflexion médicale et éthique globale est éminemment requise pour encadrer les éventuelles dérives de cette nouvelle technologie. Elle fait en effet la preuve qu'une approche pangénomique par séquençage massif en parallèle sur l'ADN tumoral comme sur l'ADN fœtal est véritablement réalisable et capable de révéler non seulement toutes les aneuploïdies mais aussi les déséquilibres subchromosomiques. Elle illustre la puissance potentielle de cet outil diagnostique, dont les conséquences doivent être anticipées pour enrichir l'information préalable des patient(e)s et adapter le conseil génétique. Le bénéfice médical réel des éventuelles découvertes fortuites qui en découlent nécessite une évaluation prudente.

---

# COMMUNICATIONS ORALES FLASH

SESSION FLASH 2

---

**CF09 : Etude du réarrangement du gène RET dans une cohorte de 329 adénocarcinomes pulmonaires****Auteurs :**

Frédéric DUGAY (1), Marjorie GOURNAY (2), Francisco LLAMAS (2), Dan Cristian CHIFOREANU (2), Nathalie RIOUX-LECLERCQ (2), Sarah MEDANE (2), Marc-Antoine BELAUD-ROTUREAU (1), Florian CABILLIC (1)

1. Laboratoire de Cytogénétique et de Biologie Cellulaire, CHU Pontchaillou Rennes, Rennes, France

2. Service d'Anatomie et Cytologie Pathologiques, CHU Pontchaillou Rennes, Rennes, France

**Mots clefs :** Adénocarcinomes pulmonaires, RET, réarrangement, FISH

**Résumé :**

**Introduction :** Le succès du crizotinib chez les patients ALK-positifs a suscité un grand intérêt pour la recherche de nouveaux gènes de fusion dans le cancer du poumon. Ainsi, les réarrangements du gène *RET* ont pu être identifiés dans les adénocarcinomes pulmonaires. Les caractéristiques clinico-pathologiques associées à ces remaniements restent cependant peu connues.

**Matériels et Méthodes :** De janvier 2014 à avril 2015, nous avons étudié le statut *RET* par hybridation *in situ* en fluorescence (FISH) de 329 prélèvements d'adénocarcinomes pulmonaires négatifs pour les mutations *KRAS/EGFR/BRAF/ERBB2* et ne présentant pas de remaniements des gènes *ALK* et *ROS1*. Ces analyses ont été réalisées en utilisant la sonde ZytoLight® SPEC RET Dual Color Break Apart Probe (Zytovision). Un cas était considéré comme positif lorsque plus de 15% des cellules tumorales présentaient une séparation des signaux ou un signal vert 3'isolé. Pour l'ensemble des patients, les données clinico-pathologiques ont été recueillies.

**Résultats :** Un réarrangement de *RET* a été mis en évidence dans 8 prélèvements sur 329 (2,4%). L'âge moyen des patients RET-positifs était de 72.6 ans. Parmi ces patients, 5/8 (62.5%) étaient des femmes. Aucune différence significative n'a été mise en évidence en ce qui concerne l'âge ( $p=0.18$ ) et le sexe ( $p=0.12$ ) par rapport aux patients RET-négatifs. Au niveau histologique, les tumeurs avec un réarrangement de *RET* présentaient une architecture solide ( $n=2$ ), acinaire ( $n=2$ ), micropapillaire ( $n=2$ ) et papillaire ( $n=1$ ). Le sous-type histologique du dernier cas n'a pas pu être évalué en raison de la nature du prélèvement (cytoponction pleurale).

**Discussion :** Dans cette étude, 2.4% des adénocarcinomes pan-négatifs pour les marqueurs précités ont présenté un réarrangement du gène *RET*. Cette étude qui porte sur une cohorte de 329 adénocarcinomes pulmonaires ne retrouve pas l'association décrite dans la littérature du réarrangement avec le sexe, l'âge et le sous-type histologique solide. Ces patients pourraient bénéficier d'une thérapie ciblée du fait de l'existence d'inhibiteurs de tyrosine kinase anti-RET qui disposent d'une AMM dans d'autres pathologies (cabozantinib, vandetanib). Il apparaît donc souhaitable de rechercher un réarrangement du gène *RET* pour les patients présentant un adénocarcinome pulmonaire négatif pour les mutations *KRAS/EGFR/BRAF/ERBB2* et ne présentant pas de remaniements des gènes *ALK* et *ROS1*.

**CF10 : OutLyzer: Logiciel de détection des mutations à ratio allélique faible dans les échantillons hétérogènes par méthode d'évaluation du bruit de fond en séquençage à haut débit****Auteurs :**

Etienne Muller (1), Nicolas Goardon (1), Baptiste Brault (1), Antoine Rousselin (1), Angéline Legros (1), Robin Fouillet (1), Olivia Bruet (1), Aurore Tranchant (1), Florian Domin (1), Chankannira San (1), Céline Quesnelle (1), Agathe Ricou (1), Thierry Frébroug (2), Sophie Krieger (3), Dominique Vaur (1), Laurent Castéra (1)

1. Laboratoire de Biologie et de Génétique du Cancer, INSERM U1079, Centre Normand de Génomique Médicale et Médecine Personnalisée, CLCC Centre François Baclesse, Caen, France

2. Unité de Génétique moléculaire, INSERM U1079, Centre Normand de Génomique Médicale et Médecine Personnalisée, CHU, Rouen, France

3. Laboratoire de Biologie et de Génétique du Cancer, INSERM U1079, Centre Normand de Génomique Médicale et Médecine Personnalisée, CLCC Centre François Baclesse, Université de Caen Normandie, Caen, France

**Mots clefs :** Bioinformatique, mosaïque, logiciel, mutation somatique

**Résumé :**

Le séquençage à haut-débit (NGS) est aujourd'hui bien implanté dans les laboratoires de diagnostic en génétique constitutionnelle et se développe en génétique somatique. En cancérologie, l'identification des mutations somatiques est une étape clé pour la prise en charge personnalisée des patients. Les logiciels utilisés pour la détection des mutations doivent présenter une grande sensibilité, compte-tenu de l'hétérogénéité tissulaire et génétique des tumeurs. Cette grande sensibilité est requise pour la détection de mutations constitutionnelles à l'état de mosaïque, dont la contribution dans la survenue des cancers précoces est probablement sous-estimée. La difficulté rencontrée par les logiciels bioinformatiques réside dans la distinction de ces mutations (diluées dans différentes populations clonales et le tissu sain environnant) du bruit de fond généré pendant le séquençage ou la préparation des échantillons. Dans ce contexte, nous avons développé un logiciel de détection des mutations faiblement représentées basé sur une évaluation statistique du bruit de fond associé aux séquences variantes. Outlyzer est codé en python et adapte la méthode Tau modifiée de Thompson. Le niveau de bruit de fond est calculé à partir des « pile-up » générés par le logiciel Samtools après alignement des FASTQ par BWA-MEM et calibration des BAM par GATK. Le niveau de bruit de fond est évalué par une fenêtre glissante analysant les régions génomiques séquencées. Seulement les SNV et indels statistiquement différents du bruit de fond sont appelés. Le logiciel applique des filtres basés sur les scores Phred et la répartition des reads mutés en sens forward et reverse. OutLyzer évalue aussi les limites de détection de l'analyse à chaque base de la capture par patient. Ce logiciel a été validé sur les données de 133 tumeurs ovariennes, colorectales, pulmonaires et de mélanome, préalablement génotypées et incluses en paraffine ainsi que d'un témoin commercial (HorizonDx). Ces échantillons ont été séquencés pour un panel de gènes (gènes entiers et hot-spots de mutations) enrichis par capture, sur Miseq (Illumina) en paired-end (2x 150pb). Les performances d'OutLyzer ont été comparées à HaplotypeCaller, Lofreq2 et Varscan. Les résultats montrent une sensibilité et une spécificité supérieure d'OutLyzer, avec une sensibilité de l'ordre de 1% d'allèle mutant sans nécessité de séquencer du tissu sain associé à l'échantillon tumoral. De plus, OutLyzer a été utilisé pour l'analyse de l'ADN constitutionnel de 511 patients séquencés sur un panel de 34 gènes dans le cadre de leur prise en charge oncogénétique. Vingt-trois variations en mosaïque ont ainsi été détectées par OutLyzer. Cet outil est aujourd'hui utilisé en routine diagnostique pour la recherche de mutations de *BRCA1* et *BRCA2* dans les cancers de l'ovaire et de *KRAS*, *NRAS* et *BRAF* dans les cancers colorectaux. Son utilisation pourrait être étendue à la recherche de mutations en mosaïque en génétique constitutionnelle.

**CF11 : Variant intronique profond dans l'intron 12 du gène BRCA2: pourquoi une pénétrance plus faible que celle d'autres mutations d'épissage ?****Auteurs :**

Sylvie MAZOYER (1), Francesca DAMIOLA (1), Laure BARJHOUX (1), Monique BUISSON (1), Charlotte SCHOLTES (1), Charlotte SAGNE (1), Joanna SOKOLOWSKA (2), Olga SINILNIKOVA (3)

1. Centre de Recherche en Cancérologie de Lyon, CNRS INSERM UCBL CLB, LYON, France

2. , Centre Hospitalier Régional Universitaire de Nancy, LYON, France

3. , Unité Mixte de Génétique Constitutionnelle des Cancers Fréquents, Hospices Civils de Lyon / Centre Léon Bérard, Lyon, LYON, France

**Mots clefs :** prédisposition génétique au cancer du sein; BRCA2; épissage; variant intronique profond

**Résumé :**

Nous avons identifié pour la première et unique fois à ce jour dans les gènes *BRCA1/2* un variant intronique profond, *BRCA2* IVS12+594T > G, renforçant un site d'épissage 5' (score passant de 0,80 à 1,00 selon « Splice Site Prediction by Neural Network »). Associé à un site d'épissage 3' dont le score est de 0,99, ce variant entraîne l'inclusion d'un exon cryptique de 95 nucléotides introduisant plusieurs codons stop prématurés dans le transcrit issu de l'allèle muté dans les lignées lymphoblastoïdes de porteuses <sup>1</sup>. IVS12+594T > G est récurrent dans la population française puisque le criblage de 3600 familles de cancer du sein et/ou de l'ovaire du diagnostic a permis d'identifier 16 familles positives au total <sup>1</sup>.

Deux événements nous ont conduit à supposer que ce variant pourrait être moins pénétrant que d'autres variants *BRCA2* délétères : 1) IVS12+594T > G a été retrouvé en trans d'un variant délétère de *BRCA2* chez une patiente ne présentant pas de phénotype d'anémie de Fanconi (AF), contrairement à ce qui est habituellement observé (bien que cette patiente présente malgré tout un phénotype cellulaire typique de l'AF) ; 2) le criblage des 1615 cas de cancers du sein familiaux *BRCA1/2* négatives et 1321 témoins de l'étude GENESIS a identifié 5 porteuses, 1 cas et 4 témoins (dont 2 ayant une apparentée au 1<sup>er</sup> degré avec un cancer du sein). Ce dernier résultat suggérait que la fréquence des porteurs de ce variant dans la population française était relativement élevée, ce qui a été confirmé dans une autre étude française (1 porteur/300 individus), renforçant ainsi l'hypothèse d'une pénétrance plus faible. Pour trancher cette question, IVS12+594T > G a été génotypé chez 62.795 cas de cancer du sein et 51.325 témoins grâce à l'étude internationale OncoArray, démontrant que ce variant est associé à un risque modéré de cancer du sein (OR ~1,87 [1,07-3,27], p=0,03), et montrant une fréquence dix fois inférieure dans les autres pays. IVS12+594T > G a donc une pénétrance plus faible que d'autres variants *BRCA2* délétères, ou une pénétrance forte dans certaines familles et faible dans d'autres. L'existence d'une éventuelle co-mutation augmentant sa pénétrance est actuellement à l'étude.

<sup>1</sup>Anczuków O, Buisson M, Léoné M, Coutanson C, Lasset C, Calender A, Sinilnikova OM, Mazoyer S. *BRCA2* deep intronic mutation causing activation of a cryptic exon: opening towards a new preventive therapeutic strategy. Clin Cancer Res, 2012, 18:4903–4909.

**CF12 : Syndrome CMMRD : nouveaux outils diagnostiques basés sur l'instabilité des microsatellites et la tolérance des lymphocytes aux agents méthylants.**
**Auteurs :**

Chrystelle Colas (1), Sahra Bodo (2), Olivier Buhard (2), Ada Collura (2), Florence Coulet (1), Noémie Lavoine (3), Odile Cabaret (4), Qing Wang (5), Thierry Frébourg (6), Magali Svrcek (7), Marion Gauthier-Villars (8), Odile Cohen- Haguenauer (9), David Malka (10), Alain Verloes (11), Julie Tinat (6), Jessie Auclair Perrossier (5), Jean-François Fléjou (7), Sophie Lejeune (12), Marie Pierre Buisine (13), Consuelo Calvino (14), Alejandro Brea-Frenandez (14), Guillaume Jedraszak (15), Michèle Mathier-Dramard (16), Sophie Grandjouan (17), Florent Soubrier (1), Franck Bourdeaut (18), Natacha Entz-Werle (19), Isabelle Mortemousque (20), Olivier Caron (21), Katarina Wimmer (22), Laurence Brugières (3), Alex Duval (2), Martine Muléris (23)

1. Département de génétique, GH Pitié Salpêtrière - APHP, Paris, France
2. INSERM UMRS 938, Centre de recherche St Antoine, Paris, France
3. Département d'oncologie pédiatrique, Institut Gustave Roussy, Villejuif, France
4. Laboratoire de biologie moléculaire, Institut Gustave Roussy, Villejuif, France
5. Plateforme de génétique constitutionnelle, Centre Léon Bérard, Lyon, France
6. Département de génétique, Hôpital Universitaire, Rouen, France
7. Service d'anatomie et cytologie pathologique, Hôpital Saint Antoine, Paris, France
8. service de génétique, Institut Curie, Paris, France
9. Consultation d'oncogénétique, Hôpital Saint Louis, Paris, France
10. Département de génétique, Institut Gustave Roussy, Villejuif, France
11. Département de génétique, Hôpital Robert Debré, paris, France
12. Service de génétique clinique, CHRU, Lille, France
13. Oncologie et génétique moléculaire, CHRU, Lille, France
14. Grupo de Medicina Xenómica, IDIS, Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras (CIBERer), Santiago de Compostela, Espagne
15. service de génétique, Hôpital Universitaire, Amiens, France
16. Service de génétique clinique, Hôpital Universitaire, Amiens, France
17. Consultation d'oncogénétique, Hôpital Cochin, Paris, France
18. Département d'oncologie pédiatrique, Institut Curie, Paris, France
19. Pédiatrie Onco-Hématologie, CHRU Hautepierre, Strasbourg, France
20. service de génétique, CHRU, Tours, France
21. Consultation d'oncogénétique, Institut Gustave Roussy, Villejuif, France
22. Département de génétique humaine, pour le réseau , Innsbruck, Autriche
23. INSERM UMRS 938, Centre de recherche St Antoine, paris, France

**Mots clefs :** CMMRD, tests diagnostiques, MSI

**Résumé :**

Le syndrome CMMRD (*constitutional mismatch repair deficiency*) est un syndrome de prédisposition aux cancers de l'enfant, de l'adolescent et du jeune adulte, dû à une mutation bi-allélique homozygote ou hétérozygote composite des gènes MMR (principalement *PMS2* ou *MSH6*, plus rarement *MLH1* ou *MSH2*), gènes plus connus pour être impliqués dans le syndrome de Lynch. Les caractéristiques cliniques d'une série française de patients CMMRD ont été décrites récemment et le consortium européen "Care for CMMRD" a proposé des critères cliniques devant faire évoquer ce syndrome. Cependant les méthodes actuelles de recherche de mutation sont imparfaites car non informatives pour 30% des patients. Les analyses somatiques (immunohistochimie des protéines MMR ou recherche d'une instabilité des microsatellites (phénotype MSI) peuvent également être mise en défaut. Les cellules cancéreuses MMR-déficientes sont connues pour être résistantes à certains agents génotoxiques et présenter un phénotype MSI. Nous avons recherché si ces caractéristiques fonctionnelles étaient également présentes dans les tissus sains de patients CMMRD.

Nous avons évalué le statut des microsatellites (nommé evMSI pour *ex vivo* Microsatellite Instability) et la réponse aux agents méthylants des cellules lymphoblastoïdes, d'abord dans une étude cas-témoins, puis dans une série de 23 patients cliniquement évocateurs de CMMRD, mais pour lesquels le diagnostic n'a pas pu être confirmé d'un point de vue moléculaire. Ce groupe comprend des patients avec des variants MMR de signification inconnue (n=8), et des patients avec une seule (n=5) ou aucune (n=10) mutation MMR délétère identifiée. L'étude cas-témoins nous a permis de définir des paramètres expérimentaux permettant de discriminer les 14 patients atteints de CMMRD d'une série de 52 patients contrôles, avec une sensibilité et une spécificité de 100%. Appliqués aux 23 patients considérés comme étant à risque pour le syndrome CMMRD, nos tests ont permis de discriminer 2 groupes : 6 patients pour lesquels un diagnostic CMMRD est hautement probable (résultats aberrants aux 2 tests fonctionnels) et 15 patients pour qui le diagnostic CMMRD est fortement improbable (résultats normaux aux 2 tests fonctionnels). Le diagnostic reste douteux pour 2 patients qui présentent des résultats contradictoires aux tests fonctionnels.

La recherche d'un phénotype evMSI et l'étude de la tolérance aux agents méthylants dans les lymphocytes immortalisés constituent des outils à la fois sensibles et spécifiques qui peuvent contribuer à exclure ou confirmer le diagnostic du syndrome CMMRD chez les patients évocateurs selon les critères définis par le consortium européen. Ces tests peuvent être mis en œuvre rapidement et peuvent être proposés à des patients indemnes de cancer (contrairement aux analyses somatiques). Nous proposons un arbre décisionnel qui intègre les critères cliniques, les techniques actuelles de diagnostic et ces deux tests fonctionnels.

**CF13 : L'empreinte parentale est responsable des différences phénotypiques observées dans les familles de rétinoblastome de faible pénétrance.****Auteurs :**

Catherine Dehainault (1), Philippine Eloy (1), Meriem Sefta (2), Isabelle Aerts (3), François Doz (4), Nathalie Cassoux (5), Livia Lumbroso le Rouic (6), Dominique Stoppa-Lyonnet (7), François Radvanyi (2), Gaël Millot (8), Marion Gauthier-Villars (1), Claude Houdayer (9)

1. Service de Génétique, Institut Curie, Paris, France
2. CNRS UMR144, Centre de recherche de l'Institut Curie, Paris, France
3. Département d'oncologie pédiatrique, adolescents jeunes adultes, Institut Curie, Paris, France
4. Département d'oncologie pédiatrique, adolescents jeunes adultes, Institut Curie, Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, Paris, France
5. Département d'oncologie chirurgicale, service d'Ophtalmologie, Institut Curie, Paris, France, Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, Paris, France
6. Département d'oncologie chirurgicale, service d'Ophtalmologie, Institut Curie, Paris, France
7. Service de Génétique, Institut Curie, Paris, France, INSERM U830, centre de recherche de l'Institut Curie, Paris, France, Université Paris Descartes, Institut Curie, Paris, France
8. UMR 3244, Centre de recherche de l'Institut Curie, Paris, France
9. Service de Génétique, Institut Curie, Paris, France, INSERM U830, centre de recherche de l'Institut Curie, Paris, France, Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, Paris, France

**Mots clefs :** empreinte, origine parentale, phénotype, rétinoblastome, faible pénétrance

**Résumé :**

Le rétinoblastome est la tumeur pédiatrique intraoculaire maligne la plus fréquente. Il résulte de l'inactivation des deux allèles du gène suppresseur de tumeur *RB1*. Les patients porteurs d'une mutation constitutionnelle *RB1* ont habituellement une atteinte bilatérale (2 yeux touchés), mais il existe aussi des formes familiales de rétinoblastome à faible pénétrance (porteurs sains) et à expressivité réduite (atteinte unilatérale). Afin de décrypter les mécanismes en cause, nous avons rassemblé 23 familles distinctes dans lesquelles ségrège soit la mutation faux sens de faible pénétrance p.Arg661Trp, soit d'autres mutations de faible pénétrance. Dans les familles p.Arg661Trp, nous démontrons pour la première fois une corrélation entre le sexe du parent transmetteur et la pénétrance : la probabilité d'être atteint est de 90.3% quand la mutation est héritée du père et de 32.5% quand elle est héritée de la mère (test exact de Fisher  $p=7.10^{-7}$ ). De façon très intéressante, une corrélation semblable a été trouvée pour les autres familles de faible pénétrance.

De ce fait, nous avons recherché l'implication d'un gène modificateur du phénotype qui serait soumis à empreinte. Nous avons d'abord étudié un mécanisme lié au gène *MED4*, dont l'expression est indispensable à la survenue du rétinoblastome. Les résultats des études d'expression et de méthylation ont rejeté un tel mécanisme. Nous avons ensuite étudié un îlot CpG (CpG85), localisé dans l'intron 2 de *RB1*, et qui montre une méthylation différentielle en fonction de l'origine parentale. Cette méthylation différentielle favorise l'expression de l'allèle *RB1* d'origine maternelle. Nous proposons donc que l'allèle muté p.Arg661Trp maternel retienne suffisamment d'activité pour prévenir le développement du rétinoblastome. En revanche, quand la mutation p.Arg661Trp est héritée du père, sa faible expression mimera l'haploinsuffisance et entraînera le rétinoblastome. C'est un mécanisme contre intuitif, par lequel un niveau élevé de l'allèle muté prévient la pathologie. Il signifie que la mutation p.Arg661Trp n'est pas délétère en soi, et qu'un événement déstabilisateur supplémentaire est nécessaire pour atteindre l'haploinsuffisance et déclencher la progression tumorale. Nos résultats suggèrent que ce phénomène est très probablement un mécanisme général expliquant les différences phénotypiques dans les familles de rétinoblastome de faible pénétrance.

**CF14 : Les paralogues de RAD51 dans la prédisposition génétique aux cancers du sein et de l'ovaire : évaluation de leur contribution chez 2 649 cas****Auteurs :**

Lisa Golmard (1), Laurent Castéra (2), Sophie Krieger (3), Virginie Moncoutier (4), Khadija Abidallah (4), Henrique Tenreiro (4), Anthony Laugé (4), Julien Tarabeux (4), Tatiana Popova (5), André Nicolas (4), Marick Laé (4), Caroline Abadie (6), Catherine Dugast (6), Pascaline Berthet (7), Florence Polycarpe (7), Thierry Frébourg (8), Camille Elan (4), Antoine de Pauw (4), Marion Gauthier-Villars (4), Bruno Buecher (4), Marc-Henri Stern (1), Dominique Stoppa-Lyonnet (9), Dominique Vaur (2), Claude Houdayer (9)

1. Département de Biopathologie, Inserm U830, Institut Curie, Paris, France
2. Laboratoire de Biologie et Génétique du cancer, Inserm U1079, Centre Normand de Génomique et de Médecine personnalisée, Centre François Baclesse, Caen, France
3. Laboratoire de Biologie et Génétique du cancer, Inserm U1079, Centre Normand de Génomique et de Médecine personnalisée, Université de Caen, Basse Normandie, Centre François Baclesse, Caen, France
4. Département de Biopathologie, Institut Curie, Paris, France
5. Inserm U830, Institut Curie, Paris, France
6. Service de Génétique clinique, Oncogénétique, Centre Hospitalo-Universitaire, Rennes, France
7. Département de Génétique, Centre François Baclesse, Caen, France
8. Département de Génétique, Université de Rouen, IRIB, Inserm U1079, Centre Normand de Génomique et de Médecine personnalisée, Centre Hospitalo-Universitaire, Rouen, France
9. Département de Biopathologie, Inserm U830, Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, Institut Curie, Paris, France

**Mots clefs :** paralogues de RAD51, prédisposition génétique, cancer du sein, cancer de l'ovaire, RAD51B, XRCC3

**Résumé :**

**Introduction.** Les paralogues de *RAD51* ont récemment été impliqués dans la prédisposition génétique aux cancers du sein et de l'ovaire : *RAD51B*, *RAD51C* et *RAD51D* dans le cancer de l'ovaire, *RAD51B* et *XRCC2* dans le cancer du sein. L'objectif de notre étude était d'estimer la contribution des mutations délétères dans les cinq paralogues de *RAD51* (*RAD51B*, *RAD51C*, *RAD51D*, *XRCC2*, *XRCC3*) aux cancers du sein et de l'ovaire.

**Méthodes.** Les cinq gènes paralogues de *RAD51* ont été analysés par séquençage haut débit sur l'ADN constitutionnel de 2 649 patients consécutifs non apparentés atteints de cancers du sein et/ou de l'ovaire, dont 2 063 patients avec antécédents personnel et/ou familial de cancer du sein seulement et 570 patients avec au moins un cancer de l'ovaire dans leurs antécédents personnels ou familiaux.

**Résultats.** Vingt-deux mutations délétères différentes ont été identifiées dans les paralogues de *RAD51* chez 35 patients : *RAD51B* (n=9), *RAD51C* (n=12), *RAD51D* (n=7), *XRCC2* (n=2) et *XRCC3* (n=5). Le taux global de mutations est de 1,32% (35/2649), incluant 20 mutations dans des cas avec seulement des cancers du sein (20/2063; 0,97%) et 15 mutations dans des cas avec au moins un cancer de l'ovaire (15/570; 2,63%).

**Conclusions.** Cette étude est la première évaluation de la contribution des cinq paralogues de *RAD51* dans la prédisposition génétique aux cancers du sein et de l'ovaire ; elle démontre que des mutations peuvent être présentes dans des cas avec seulement des cancers du sein. De plus, c'est la première fois que des mutations délétères du gène *XRCC3* sont identifiées dans des cas de cancers du sein et de l'ovaire. Cette étude permettra l'estimation de la pénétrance des mutations dans les paralogues de *RAD51* par des analyses de co-ségrégation de ces mutations avec la maladie chez les apparentés.

**CF15 : Les mutations constitutionnelles du gène de la fumarate hydratase prédisposent aux paragangliomes malins.****Auteurs :**

Luis Jaime Castro-Vega (1), Alexandre Buffet (1), Aguirre de Cubas (2), Alberto Cascón (2), Mélanie Menara (1), Emmanuel Khalifa (3), Laurence Amar (4), Sharona Azriel (5), Isabelle Bourdeau (6), Olivier Chabre (7), Maria Currás-Freixes (2), Valérie Franco-Vidal (8), Marine Guillaud-Bataille (9), Christophe Simian (3), Aurélie Morin (1), Rocío Letón (2), Álvaro Gómez-Graña (2), Patrick Pollard (10), Pierre Rustin (11), Mercedes Robledo (2), Judith Favier (1), Anne-Paule Gimenez-Roqueplo (3)

1. INSERM, UMR970, Paris-Cardiovascular Research Center, F-75015, Paris, France, Paris, France
2. Hereditary Endocrine Cancer Group, Spanish National Cancer Center (CNIO), Madrid, Espagne
3. Service de Génétique, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris, France
4. Unité d'hypertension artérielle, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris, France
5. Endocrinology Service, Infanta Sofía Hospital, Madrid, Espagne
6. Division of Endocrinology, Department of Medicine, Research Centre, Centre hospitalier de l'Université de Montréal (CRCHUM), Montréal, Canada
7. Département d'Endocrinologie, CHU Albert Michallon, Grenoble, France
8. Département d'Otolaryngologie, CHU Pellegrin, Université Bordeaux Segalen, Bordeaux, France
9. Service de Génétique, Institut de Cancérologie Gustave Roussy, Villejuif, France
10. Cancer Biology and Metabolism Group, Edinburgh Cancer Research UK Centre, Institute of Genetics and Molecular Medicine, University of Edinburgh, Edinburgh, Royaume Uni
11. INSERM U676, Hôpital Robert Debré, Paris, France

**Mots clefs :** paragangliome malin, fumarate hydratase

**Résumé :**

## Contexte

Les paragangliomes (PGL) et phéochromocytomes (PH) sont des tumeurs endocrines rares dont un tiers sont génétiquement déterminés, secondaire des mutations constitutionnelles dans un des 13 gènes de prédisposition connus. La majorité des mutations sont localisées dans un des gènes *SDHx* (*SDHA, B, C, D*) codant pour la succinate deshydrogenase. Chez une patiente ayant un PH malin sporadique se comportant sur les études de méthylation comme une tumeur porteuse d'une mutation *SDHx*, nous avons récemment identifié par « whole-exome sequencing » une mutation constitutionnelle du gène codant pour la fumarate hydratase (*FH*). L'objectif de cette étude était d'évaluer la fréquence des mutations *FH* dans une large cohorte internationale de PGL/PH.

## Patients et méthodes

Le séquençage direct et la recherche de grand réarrangement du gène *FH* a été réalisé chez 598 patients ayant un PGL/PH sans mutation constitutionnelle dans un des gènes de prédisposition connu. La méthylation globale de l'ADN et la succination des protéines dans les tumeurs ont été évaluées par immunohistochimie anti 5-hydroxyméthylcytosine (5-hmC) et S-(2-succinyl) cystéine (2SC) respectivement.

## Résultats

Nous avons identifié cinq patients porteurs de mutations pathogènes constitutionnelles dans le gène *FH*. Trois patients avaient un PGL malin et trois avaient des PGL multiples. Une inactivation somatique dans le second allèle était présente dans les trois PGL testés. L'immunomarquage 5-hmC était identique à celui des tumeurs *SDHx*, mais un immunomarquage positif pour 2-SC permettait de détecter spécifiquement les tumeurs avec mutation *FH*.

## Conclusion

Les mutations constitutionnelles du gène *FH* prédisposent non seulement au syndrome HRLCC mais aussi aux PGL malins et/ou multiples. Les patients porteurs d'un PGL malin doivent bénéficier de l'analyse moléculaire de ce gène, et un suivi adapté au risque de cancer du rein doit être proposé aux patients porteurs d'une mutation dans le gène *FH*. Enfin l'immunohistochimie anti 2-SC peut prédire ou valider une mutation dans le gène *FH*.

**CF16 : Mise en place systématique et à grande échelle d'un conseil génétique de groupe en oncogénétique.****Auteurs :**

Marina DI MARIA (1), Patrick BENUSIGLIO (1), Leila DORLING (2), Anne JOUINOT (1), Antoine POLI (1), Sophie VILLEBASSE (3), Marine LE MANTEC (1), Béatrice CLARET (4), Diane BOINON (4), Olivier CARON (1)

1. Consultation de génétique, Gustave Roussy, Villejuif, France
2. Centre for Cancer Genetic Epidemiology, Strangeways Research Laboratory, Cambridge, Royaume Uni
3. Consultation de génétique, Gustave Roussy, villejuif, France
4. unité de psycho-oncologie, Gustave Roussy, Villejuif, France

**Mots clefs :** oncogénétique, prédisposition aux cancers du sein et de l'ovaire, conseil génétique

**Résumé :**

**Introduction** L'Oncogénétique est confrontée depuis deux ans à une forte augmentation des demandes de consultation. Celles-ci concernent plus particulièrement les patientes avec suspicion de syndrome du cancer du sein et de l'ovaire héréditaire lié aux mutations constitutionnelles de *BRCA1/2* (hereditary breast and ovarian cancer, HBOC). A « l'effet Angelina Jolie » s'ajoutent la mise sur le marché des inhibiteurs PARP et le développement du génotypage somatique des tumeurs. Le nombre de professionnels de l'Oncogénétique n'évoluant pas en parallèle, de nouveaux modes de conseil génétique doivent être proposés afin de satisfaire l'ensemble des demandes dans des délais raisonnables, et dans le respect des exigences légales et éthiques d'information préalable. **Matériels et méthodes** Depuis octobre 2014, nous avons mis en place à Gustave Roussy un conseil génétique de groupe pour les patientes avec suspicion d'HBOC. Les cas index de sexe féminin âgés de 32 à 78 ans et ayant un score de performance de 0-1 étaient systématiquement inclus. Le conseil génétique était divisé en deux parties au sein d'une même matinée. La première consistait en une présentation de 20 minutes sur l'HBOC par la conseillère en génétique (CG), suivie de 10 minutes de questions-réponses en présence de l'oncogénéticien et d'une psychologue. La CG voyait ensuite chaque patiente individuellement pour recueillir l'histoire personnelle et familiale, obtenir le consentement éclairé et prescrire l'analyse. Les patientes remplissaient un questionnaire évaluant leurs connaissances en Oncogénétique avant et après la session de groupe, ainsi qu'un questionnaire de satisfaction au moment de quitter l'hôpital. **Résultats** Entre le 9/10/2014 et le 20/08/2015, nous avons inclus 210 patientes avec un âge moyen de 51 ans, 182 avec cancer du sein, 26 avec cancer de l'ovaire, et deux avec cancer du sein et de l'ovaire. Jusqu'à huit patientes étaient vues dans une matinée. Le score moyen de satisfaction était de 19/20. Le score de connaissances passait de 10/20 avant la session de groupe à 16/20 après ( $p < 2.2 \times 10^{-16}$ ), une progression supérieure à ce que l'on a observé après un conseil génétique classique. **Discussion** Nous avons mis en place avec succès un conseil génétique de groupe pour les cas index avec suspicion d'HBOC. Cette approche nous a permis de voir deux fois plus de patientes par demi-journée comparé à une approche classique, sans compromettre la transmission des informations ou la relation avec le patient. Nous avons observé également une véritable dynamique de groupe, les patientes posant de nombreuses questions qui profitaient à l'ensemble des participantes. **Conclusion** Le conseil génétique de groupe est une approche novatrice, acceptable par le patient et efficace en termes d'information, et qui permet de faire face aux nouveaux défis de l'Oncogénétique.

---

# COMMUNICATIONS ORALES FLASH

SESSION FLASH 3

---

**CF17 : Le syndrome de Larsen de l'île de La Réunion lié à des mutations de  $\beta 4GALT7$  : présentation d'une cohorte de 40 patients, suivi évolutif et recommandations de prise en charge****Auteurs :**

Mireille IRABE (1), Marie Line JACQUEMONT (2), Hanitra RANDRIANAIVO (2), Alain FOURMAINTRAUX (2), Jean Marc LAVILLE (3), Alain ALIAMUS (4), Guy CHAURAND (5), Mohamed L'KAISSY (3), Jean-Christophe RUZIC (4), Samuel JACOPIN (6), Laure HOUDON (7), Elise BISMUTH (7), Domitille DUBOIS (8), Denis LAMBLIN (8), Pierre BOUE (4), Anne Gaëlle JEGU (9), Michel CAMPECH (10), Patrick MUNIER (11), François CARTAULT (11), Bérénice DORAY (11), Jean-Luc ALESSANDRI (12)

1. UF de Génétique Médicale, CHU La Réunion , Saint Pierre ,
2. UF de Génétique Médicale, CHU La Réunion , Saint Pierre , Réunion
3. Service de Chirurgie Infantile , CHU La Réunion , Saint Denis , Réunion
4. Service de Chirurgie Infantile , CHU La Réunion , Saint Pierre , Réunion
5. Service de Pédiatrie , CHU La Réunion , Saint Pierre , France
6. Service de Chirurgie Infantile , CHU La Réunion , saint Pierre , Réunion
7. Service de Pédiatrie , CHU La Réunion , Saint Pierre , Réunion
8. CAMSP, Fondation Père Favron , Saint Louis , Réunion
9. Service de Rééducation Fonctionnelle, CHU La Réunion , Tampon, Réunion
10. Service de Rééducation Fonctionnelle, CHU La Réunion , Saint Denis , Réunion
11. Service de Génétique , CHU La Réunion , Saint Denis , Réunion
12. Service de Néonatalogie, CHU La Réunion , Saint Denis , Réunion

**Mots clefs :** Syndrome de Larsen de l'île de La Réunion,  $\beta 4GALT7$ , nanisme, luxation, linkeropathie, hyperlaxité ligamentaire, Clé anglaise, La Réunion

**Résumé :**

Le syndrome de Larsen de l'île de La Réunion est une affection congénitale autosomique récessive, responsable de manifestations cliniques et radiologiques associant luxations articulaires multiples, hyperlaxité ligamentaire, singularités faciales, retard statural sévère, avance de l'âge osseux sur les os du carpe, élargissement des métaphyses, chez des patients ayant en commun leur origine géographique réunionnaise.

Depuis la description princeps en 1975, une soixantaine de patients ont été identifiés dont les signes cardinaux permettent de décrire le syndrome de Larsen de l'île de La Réunion comme une entité clinique spécifique au sein du groupe des dysplasies osseuses avec luxations articulaires multiples.

Après avoir éliminé des entités cliniques ou radiologiques proches, principalement le syndrome de Larsen autosomique dominant lié à *FLNB*, le syndrome de Desbuquois lié à *CANT1* et la dyplasie spondylo-éphysaire avec luxations liée à *CHST3*, l'identification du gène  *$\beta 4GALT7$*  nous a permis de décrire une cohorte de 40 patients Réunionnais (de la période foetale jusqu'à 68 ans) présentant tous la même mutation homozygote p.R270C témoin d'un effet fondateur (Cartault et al. 2015).

L'objectif de ce travail est de présenter le profil clinique, radiologique et évolutif de cette cohorte. Les patients présentent tous une petite taille de naissance (- 3DS et plus). Les principales manifestations ostéo-articulaires néonatales sont des luxations multiples affectant les grosses articulations, des pieds bots varus équins et des anomalies des pouces. Les singularités du visage sont constantes : hypoplasie de l'étage moyen de la face, microstomie. Les radiographies osseuses précoces objectivent une avance de l'âge osseux carpien, un aspect de clé anglaise à l'extrémité supérieure des fémurs, une synostose radio-cubitale. Les manifestations articulaires imposent une prise en charge orthopédique et chirurgicale codifiée. Le déficit statural est constant et sévère. Certains patients ont été traités par hormone de croissance, avec un bénéfice en cours d'évaluation. Une cardiopathie peut être rencontrée. Les autres complications observées sont le glaucome, l'obésité, les difficultés scolaires. Des décès précoces ont été rapportés, en rapport avec des anomalies laryngées ou liés à une luxation cervicale. L'évolution est marquée par une récurrence des luxations, une ostéoporose, des douleurs articulaires pouvant conduire à une perte de la marche.

Initialement décrit dans une forme progéroïde du syndrome d'Ehlers-Danlos, Le gène  *$\beta 4GALT7$*  est responsable du syndrome de Larsen de La Réunion. Il code pour la galactosyltransférase 1 impliquée dans la synthèse des protéoglycanes, plus particulièrement dans la liaison (link) d'un tétraholoside sur la protéine centrale. Ceci permet de positionner le syndrome de Larsen de La Réunion au sein d'un groupe de pathologies baptisées linkeropathies.

**CF18 : LHFPL5 est le gène majeur des surdités sur l'île de La Réunion****Auteurs :**

sandrine marlin (1), justine lerat (2), marie-line jacquemont (3), françoise darcel (4), julie litzner (2), souad gherbi (5), ines ben aissa (5), fabienne saint jalmes digeon (5), natalie loundon (6), noel garabedian (6), jean paul bonnefont (7), laurence jonard (8)

1. CRMR Surdités Génétiques, Service de Génétique Médicale, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France
2. CRMR Surdités Génétiques, Laboratoire de Génétique Moléculaire, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France
3. Génétique Médicale, CHU la Réunion site GHSR, SAINT PIERRE, France
4. Neurologie, CHU la Réunion site GHSR, SAINT PIERRE, France
5. CRMR Surdités Génétiques, Service de Génétique Médicale, Hôpital Necker Enfants Malades, paris, France
6. ORL, Hôpital Necker Enfants Malades, paris, France
7. Laboratoire de Biologie moléculaire, Hôpital Necker Enfants Malades, paris, France
8. CRMR Surdités Génétiques, Laboratoire de Génétique Moléculaire, Hôpital Necker Enfants Malades, paris, France

**Mots clefs :** surdité, LHFPL5, Effet fondateur, Ile de la Réunion

**Résumé :**

Située dans l'hémisphère Sud, l'île de la Réunion fait partie de l'Archipel des Mascareignes. Elle occupe une superficie de 2513 km<sup>2</sup> et est distante de 9180 km de Paris. Cette île ne se trouve pas sur les grands axes de navigation de l'océan indien, l'isolant du reste du Monde jusqu'aux premiers transports aériens. Sa géographie, constituée de deux massifs volcaniques : le piton de la fournaise toujours en activité et le piton des neiges comportant 3 cirques aux parois abruptes (dont Mafate inaccessible par la route), constitue un obstacle aux communications internes. En 1664, Colbert crée la compagnie des Indes Orientales et envoie sur l'île Bourbon un groupe de 20 Français célibataires avec des serviteurs malgaches et Indiens. Actuellement les Créoles blancs, issus du premier noyau de colons, représentent 20% de la population de l'île. Parmi eux « Petits Blancs » se sont installés dans les « Hauts » aux cours du XIX siècle. Seuls dix patronymes sont portés par deux tiers de la population, témoin d'une endogamie importante (75% en 1975 dans le cirque de Cilaos). C'est dans cette population que l'on retrouve la prévalence la plus forte de surdité congénitale qui est de 1.6/1000 contre 0.8/1000 en Métropole. On estime actuellement les origines génétiques des surdités congénitales à 80%. Deux tiers des surdités prélinguales sont isolées et plus de 40 gènes impliqués dans celles-ci ont été clonés à ce jour. 90% des surdités isolées congénitales se transmettent selon un mode autosomique récessif.

Depuis 2006, 20 enfants (16 familles) originaires de la Réunion présentant une surdité profonde isolée bilatérale ont bénéficié d'une implantation cochléaire dans notre service. 15 d'entre eux (12 familles) présentaient un phénotype similaire : surdité bilatérale profonde isolée congénitale avec retard moteur du à une aréflexie vestibulaire bilatérale sans malformation cochléo-vestibulaire ni atteinte rétinienne.

Grâce à une étude en NGS d'un panel de gènes impliqués dans les surdités, nous avons mis en évidence dans 9/12 familles l'implication du gène LHFPL5, identifié préalablement dans des familles Turques et Pakistanaises. La protéine LHFPL5 comprend 4 domaines transmembranaires et s'exprime lors de l'embryogénèse de l'organe Corti. Le phénotype observé chez nos patients reproduit totalement celui du mutant murin *hscy*. L'ensemble des patients portent la mutation 185delT à l'état homozygote sauf une famille (origine Réunion + Métropole) dans laquelle elle est associée à une autre variation faux sens en Trans. Grâce à une étude des registres des naissances, nous avons pu identifier le couple d'ancêtre commun à ces 9 familles. Alexis et Brigitte sont nés sur l'île Bourbon en 1693 et sont issus de familles arrivées de la Métropole en 1665 et 1674.

**CF19 : Identification d'un nouveau gène de ciliopathies, KIAA0586, dont les mutations sont responsables d'un spectre phénotypique sévère de type Hydrolethalus et côtes courtes-polydactylie**
**Auteurs :**

Carolline Alby (1), Kevin Piquand (1), Céline Huber (2), André Megarbané (3), Amale Ichkou (4), Marine Legendre (5), Fanny Pelluard (6), Ferechté Encha-Ravazi (4), Georges Abi Tayeh (7), Bettina Bessières (4), Salima El Chehadeh-Djebbar (8), Nicole Laurent (8), Laurence Faivre (9), László Sztriha (10), Melinda Zombor (10), Hajnalka Szabó (10), Marion Failler (11), Meriem Garfa-Traore (12), Christine Bole-Feyssot (13), Patrick Nitschké (14), Mathilde Nizon (2), Nadia Elkhartoufi (1), Françoise Clerget-Darpoux (1), Arnold Munnich (15), Stanislas Lyonnet (1), Michel Vekemans (15), Sophie Saunier (11), Valérie Cormier-Daire (2), Tania Attié-Bitach (1), Sophie Thomas (1)

1. Embryology and Genetics of Congenital Malformations, Université Paris Descartes Sorbonne Paris Cité - INSERM U1163 - Institut Imagine, PARIS, France
2. Laboratory of Molecular and Physiopathological bases of osteochondrodysplasia, Université Paris Descartes Sorbonne Paris Cité - INSERM U1163 - Institut Imagine, PARIS, France
3. Medical Genetics Unit, Saint Joseph University, Beyrouth , Liban
4. Département de Génétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, PARIS, France
5. Department of Genetics, Université de Poitiers, Poitiers, France
6. Unité de Pathologie Fœtoplacentaire, Groupe hospitalier Pellegrin, Bordeaux, France
7. Service de gynécologie obstétrique, Hôtel-Dieu de France, Beyrouth, Liban
8. Génétique et Anomalies du Développement - EA4271, Université de Bourgogne, Dijon, France
9. Génétique et Anomalies du Développement - EA4271, Université de Bourgogne, PARIS, France
10. Department of Paediatrics, Faculty of Medicine, University of Szeged, Szeged, Hongrie
11. Laboratory of Inherited Kidney Diseases, Université Paris Descartes Sorbonne Paris Cité - INSERM U1163 - Institut Imagine, PARIS, France
12. Cell Imaging platform, Université Paris Descartes Sorbonne Paris Cité - INSERM U1163 - Institut Imagine, PARIS, France
13. Genomic Core Facility, Université Paris Descartes Sorbonne Paris Cité - INSERM U1163 - Institut Imagine, PARIS, France
14. Plateforme Bioinformatique, Université Paris Descartes Sorbonne Paris Cité - INSERM U1163 - Institut Imagine, PARIS, France
15. Département de Génétique, Université Paris Descartes Sorbonne Paris Cité - INSERM U1163 - Institut Imagine, PARIS, France

**Mots clefs :** KIAA0586, syndrome Hydrolethalus, syndrome des Côtes courtes polydactylie, ciliogenèse, signalisation Sonic Hedgehog, maturation centriolaire, satellite centriolaire

**Résumé :**

Les cils primaires sont des extensions présentes à la surface de la plupart des cellules des vertébrés. Ils s'étendent à partir du centriole père pour former un axonème composé de neuf paires de microtubules périphériques sans doublet central, les distinguant des cils mobiles. Ils constituent de véritables plateformes de signalisation cellulaire nécessaires en particulier à la transduction de la voie Sonic Hedgehog (Shh). Des anomalies de biogénèse ou de fonction des cils primaires conduisent à un large spectre d'anomalies développementales regroupées sous le terme « ciliopathies ». Les ciliopathies présentent une grande hétérogénéité génétique et phénotypique associée à un allélisme fréquent entre les différents syndromes.

*KIAA0586*, l'orthologue humain de *Talpid3*, code une protéine centrosomale essentielle à la ciliogénèse. Les modèles animaux d'extinction de ce gène présentent des défauts typiques d'un défaut de la voie Shh tels la polydactylie et un patterning anormal du tube neural.

Par une approche de séquençage haut débit de 1200 gènes ciliaires (ciliome) nous avons identifié des mutations homozygotes de *KIAA0586* dans 4 familles avec ciliopathies létales associant anomalies squelettiques et cérébrales sévères caractéristiques des syndromes Hydrolethalus et Côtes Courtes Polydactylie.

Comme chez l'animal, nous avons observé un défaut de ciliogénèse dans les cellules issues de fœtus mutés démontrant que *KIAA0586* est nécessaire à la biogénèse ciliaire chez l'homme. Ces cellules sont insensibles à un agoniste de la voie Shh et présentent une régulation anormale de GLI3, facteur de transcription majeur de la voie dont le clivage en forme répressive est altéré. Ainsi, chez les cas atteints, les défauts de ciliogénèse sont associés à une transduction anormale de la voie SHH indiquant qu'une partie au moins du phénotype observé est due à un défaut de cette voie.

Afin de comprendre l'origine des défauts ciliaires associés aux mutations de *KIAA0586*, et du fait qu'il code une protéine centriolaire, nous avons analysé la maturation centriolaire, étape essentielle de la ciliogénèse, dans les cellules de fœtus atteints. Par une méthode de microscopie haute résolution (STED), nous avons observé un adressage normal des protéines constituant les appendices centriolaires distaux et subdistaux indiquant une maturation centriolaire normale. Cependant, nous avons observé un patterning anormalement étendu de CEP290, localisée au niveau des satellites centriolaires. Ces résultats sont en accord avec les données chez la souris et suggèrent que les défauts de ciliogénèse seraient secondaires à un défaut de dispersion du matériel péri-centriolaire nécessaire à l'induction de la ciliogénèse.

Ces travaux démontrent que des mutations de *KIAA0586* sont responsables chez l'homme de ciliopathies létales. De plus ils mettent en lumière le rôle crucial de *KIAA0586* dans la ciliogénèse et par voie de conséquence dans la transduction de la voie SHH.

**CF20 : Le séquençage haut débit en pratique clinique : des préférences des patients au consentement informé****Auteurs :**

Aurore Pélissier (1), Christine Peyron (2), Françoise Houdayer (3), Dominique Salvi (1), Sarah Kidri (1), Elodie Gautier (4), Christelle Thauvin (5), Lauraine Joly (6), Elodie Cretin (7), Aline Chassagne (8), Jean-Baptiste Rivière (9), Daphné Lehalle (6), Nolwen Jean (6), Julien Thévenon (6), Pierre Ancet (10), Oliviers Putois (11), Anne-Sophie Lapointe (12), Paulette Morin (12), Patrick Edery (13), Massimiliano Rossi (14), Damien Sanlaville (13), Laurence Faivre (15), Sophie Béjean (16)

1. LEDi - uB - UMR 6307 CNRS - U1200 Inserm, Université Bourgogne Franche-Comté, Dijon, France
2. LeDi - uB - UMR 6307 CNRS - U1200 Inserm, Université Bourgogne Franche Comté, Dijon, France
3. Centre de Référence Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs Centre Est, HCL, Hôpitaux Civils de Lyon, Lyon, France
4. FHU TRANSLAD, CHU Dijon , université Bourgogne Franche Comté, Dijon, France
5. Centre de référence Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs, CHU Dijon EA GAD 4271, Université de Bourgogne , université Bourgogne Franche Comté, Dijon, France
6. Centre de référence Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs, CHU Dijon, Dijon, France
7. CIC-IT 808 Inserm / Espace de Réflexion Ethique Bourgogne / Franche-Comté (EREBFC) – CHRU de Besançon , CHRU Besançon, Besançon, France
8. CIC-IT 808 Inserm / Espace de Réflexion Ethique Bourgogne / Franche-Comté (EREBFC) – CHRU de Besançon , CHRU Besançon, Besançon, France
9. Centre de référence Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs, CHU Dijon EA GAD 4271, Université de Bourgogne , Université Bourgogne Franche Comté, Dijon, France
10. Centre Georges Chevrier, Université Bourgogne Franche-Comté, Dijon, France
11. EA3071, Université de Strasbourg, Strasbourg, France
12. Alliance maladies rares, Alliance maladies rares, Paris, France
13. Centre de Référence Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs Centre Est, HCL HCL, Service de Génétique, Equipe TIGER, CRNL, CNRS UMR 5292, INSERM U1028, UCBL1, Lyon, France, Hôpitaux Civils de Lyon, université de Lyon , Lyon, France
14. Centre de Référence Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs Centre Est, HCL , Hôpitaux Civils de Lyon, université de Lyon , Lyon, France
15. Centre de référence Anomalies du Développement Syndromes Malformatifs de l'interrégion Est, EA GAD 4271, , CHU Dijon - Université Bourgogne Franche Comté, , France
16. LEDi - uB - UMR 6307 CNRS - U1200 Inserm, Université Bourgogne Franche Comté, Dijon, France

**Mots clefs :** séquençage haut-débit, préférences de patients, maladies rares, médecine génomique, économie de la santé

**Résumé :**

Le développement du séquençage haut débit d'exome (SHD-E) est en voie de transformer considérablement le domaine des pathologies du développement, de la recherche fondamentale au soin. Le transfert en pratique quotidienne pour l'expertise diagnostique nécessite de pouvoir anticiper l'information à communiquer aux patients et aux parents pour obtenir leur consentement à la réalisation du SHD-E. Or, la perception de la nature de l'information issue des tests génétiques pose des questions méthodologiques d'évaluation économique de la valeur des tests, mais aussi des questions éthiques sensibles en interrogeant la place à donner à ces informations dans le cadre des procédures de consentement des patients. Certaines études économiques évaluent spécifiquement la valeur des informations non sollicitées et incertaines en révélant les préférences des patients ou en étudiant le rapport bénéfice/risque des tests génétiques. Ces travaux suffisent-ils à savoir ce que doit être un consentement éclairé ? Les patients et leur famille n'accordent-ils pas de la valeur à d'autres dimensions de la relation entre généticiens et patients ? D'autres études montrent en effet que le consentement autonome, volontaire et éclairé suppose en fait information a priori, respect du droit à l'information et à la non information, et accompagnement des patients. Finalement, ces différentes approches plaident pour une évaluation des préférences des patients qui prenne en compte différentes dimensions du processus d'information et de consentement vis-à-vis du SHD.

Notre recherche vise à évaluer les préférences des familles de patients atteints de maladies rares vis-à-vis de la diffusion des résultats issus du SHD-E. Elle correspond au volet « quantitatif » de l'étude SEQUAPRE, financée par la Fondation Maladies Rares, menée par les Centres de Références Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs de Dijon et Lyon depuis janvier 2015. Pluridisciplinaire, cette recherche a objectif de décrire et comprendre les attentes des parents en amont du SHD-E (analyse économique) et leurs réactions en aval de l'annonce des résultats (psychologie). Pour « révéler » les préférences des familles de patients, notre étude s'appuie sur la méthode du *Discrete Choice Experiment* DCE), aujourd'hui recommandée par la littérature internationale. Elle vise à enquêter, via des questionnaires distribués lors d'entretiens individuels, 500 parents de patients atteints d'anomalies du développement et/ou déficience intellectuelle, potentiels candidats à des analyses de SHD-E . L'objet de la communication est de présenter la première phase de l'étude qui a permis d'identifier les différents attributs à intégrer au DCE. Nous avons identifié 6 attributs relatifs d'une part à la nature de l'information (résultats incertains, incidentaux, réexaminables) mais aussi à la façon dont elle est transmise aux familles et aux patients (identité, accompagnement, prix hypothétique).

**CF21 : Pratique et supervision de la consultation conjointe généticien-psychologue : à propos d'une expérience sur 30 dossiers (2011-2015)****Auteurs :**

Anne-Claire Mazery-de Vergnette (1), Marlene Rio (1), Adele Driben (1), Muriel Flis-Treves (1), Jeanne Amiel (1), Genevieve Baujat (1), Valerie Cormier-Daire (1), Stanislas Lyonnet (1), Catherine Brun (1), Arnold Munnich (1)

1. Génétique médicale, Hôpital Universitaire Necker-Enfants Malades, Université Paris Descartes et Institut Imagine (UMR INSERM 1163), Paris, France

**Mots clefs :** consultation de génétique, conjointe, supervision, binôme, psychologue, psychanalyste

**Résumé :**

Dans le service de génétique de l'hôpital Necker, les enfants malades et leurs familles sont, autant que possible, reçus en consultation conjointe par un généticien et un psychologue. Cette double écoute proposée d'emblée permet aux familles « porteuses » de questions, d'inquiétudes, ou de maladies génétiques diagnostiquées, d'être entendues dans leur globalité, organique et psychique, individuelle et familiale, et facilite l'émergence de leurs affects, leurs angoisses et leurs représentations de la maladie. En effet, les consultations de génétique ébranlent le roman familial, questionnent les transmissions réelles et symboliques, convoquent la culpabilité, la honte et les fantasmes incestueux, autour de la question des origines du sujet et de sa filiation. La présence du psychologue permet de prendre en compte cette part d'irrationnel, d'inconscient, qui émerge alors, dans l'ici et maintenant.

Toutefois, les réactions des familles confrontées au traumatisme de la maladie génétique qui se trouvent projetées sur ce binôme peuvent être difficiles à accueillir et à contenir. Afin de ne pas répondre dans le *Réel* à ces projections inconscientes et pour en comprendre les ressorts, nous avons mis en place un cadre permettant à ces binômes d'effectuer un travail de mise à distance des mouvements pulsionnels des patients et d'identification des mouvements contre-transférentiels. Ces supervisions collectives mensuelles sont animées par des psychanalystes et ont pour but de soutenir les soignants et renforcer leur collaboration en les aidant à identifier leurs réactions et leurs émotions, à verbaliser leurs incompréhensions et frustrations, à mettre des mots sur les mouvements ambivalents susceptibles d'émerger dans le cadre de leur pratique. La spécificité de ces supervisions est l'écoute du binôme généticien-psychologue, et non de chaque professionnel individuellement, et l'analyse des dynamiques relationnelles qui se dessinent à partir du matériel clinique rapporté. Ce dispositif permet de réfléchir au cadre de soin proposé aux patients, à la dynamique mise en place au cours de la consultation, et au rôle de chacun dans ce dispositif. Il contribue à favoriser l'aspect thérapeutique du travail collectif. Les supervisions ne visent pas à apporter des réponses préfabriquées mais à permettre aux participants d'amorcer un travail d'élaboration dans le but de maintenir le cadre de l'alliance thérapeutique qui pourra soutenir les familles dans leurs cheminements.

**CF22 : La neurofibromatose de type 1 (NF1) et moi : avoir la NF1 à l'adolescence****Auteurs :**

Frédérique Duplain-Laferrière (1), Régen Drouin (2), Claire-Marie Legendre (1), Chantal Bouffard (1)  
1. Génétique, Université de Sherbrooke, Sherbrooke, Canada  
2. Génétique, Université Laval, Québec, Canada

**Mots clefs :** neurofibromatose de type 1, adolescents, anthropologie médicale, aspects sociaux, questionnaire en ligne

**Résumé :**

L'adolescence est un moment charnière, où l'apprentissage de la vie en société, de l'amour et de la sexualité, ainsi que les capacités académiques détermineront en grande partie les conditions de vie une fois adulte. Considérant les manifestations cliniques et psychosociales de la neurofibromatose de type 1 (NF1), cette période est d'autant plus difficile pour celles et ceux qui en sont atteint(e)s. Les problèmes cliniques et psychosociaux associés à la NF1 peuvent mener à la stigmatisation, à la perte d'estime de soi, à l'isolement social, à la vulnérabilité, à l'anxiété et à la dépression. Dans ce contexte, nous nous sommes intéressés aux perceptions, aux expériences et aux préoccupations d'adolescent(e)s canadien(ne)s de 15 à 19 ans, ayant un diagnostic de NF1. Nos objectifs étaient de : 1) déterminer leur niveau de connaissances et leurs besoins en informations sur les aspects cliniques et génétiques de la NF1 et 2) connaître leurs préoccupations concernant ses impacts sur leur vie sociale (école, travail, société) et privée (sexualité, amour, reproduction).

**Méthodologie :** Entrevues asynchrones en ligne visant à laisser le temps nécessaire aux participant(e)s pour répondre, dans l'anonymat, sans se sentir jugés ou mal à l'aise. Cette méthode permet d'échanger avec les adolescent(e)s, au moyen d'une boîte de discussion. En raison de la nature intime des questions, nous avons obtenu du Comité éthique, que les mineur(e)s puissent consentir seuls à la recherche.

**Résultats :** *Objectif 1 :* La majorité des adolescent(e)s sont bien renseignés sur l'origine de la NF1 et son mode de transmission. Par contre, il leur semble difficile de trouver les ressources pour répondre à leurs questions. *Objectif 2 :* Tous ont mentionné que la NF1 a des impacts négatifs dans leur vie. Elles/ils mentionnent des douleurs prenantes, de la fatigue, de l'angoisse et des difficultés d'apprentissage. Quant à leur vie sociale et intime, la majorité de ces adolescent(e)s ont été victimes de moqueries, mais sont à l'aise avec leur partenaire amoureux. La plupart regardent l'avenir avec incertitude, à cause de l'évolution inconnue de leurs symptômes et parce qu'ils ne peuvent envisager leur métier de rêve. Par contre, quelques participant(e)s ont mentionné des impacts positifs du fait d'avoir la NF1. Plusieurs rapportent la difficulté de parler librement de la NF1 à la maison, mais lorsqu'un membre de la famille est atteint, le dialogue semble plus aisé.

**Conclusion :** Considérant que des interventions précoces améliorent la qualité de vie, le rendement scolaire et l'intégration sociale des mineur(e)s atteints de NF1, les résultats de cette recherche sont révélateurs de leurs besoins. Ceux et celles qui ont participé aux entrevues n'ont pas tous la même résilience par rapport à la NF1. Cependant, un support parental adéquat, une attitude positive et un réseau social solide facilitent l'acceptation des symptômes.

**CF23 : A dominant mutation in MAPKAPK3, an actor of p38 signaling pathway, causes a new retinal dystrophy involving Bruch's membrane and retinal pigment epithelium.****Auteurs :**

- Isabelle Meunier (1), Albert Jean Charles (2), Yves Cohen (3), Béatrice Bocquet (4), Guy Lenaers (5), Christian Hamel (6)
1. ophtalmologie, CHU de Montpellier , Montpellier , France
  2. Ophtalmologie, CHU Fort de France , Fort de France Martinique , Martinique
  3. Centre Imagerie Laser Antoine Bourdelle, CHU de Créteil, Paris, France
  4. ophtalmologie, CHU de Montpellier , Montpellier, France
  5. Pôle de recherche et d'enseignement en médecine mitochondriale, CHU Angers, Angers, France
  6. ophtalmologie, CHU Montpellier, Montpellier, France

**Mots clefs :** bruch's membrane, retinal pigment epithelium, Martinique Crinkled Retinal Pigment Epitheliopathy, polypoidal choroidal vasculopathy, p38 signaling pathway

**Résumé :**

Inherited retinal dystrophies are clinically and genetically heterogeneous with significant number of cases remaining genetically unresolved. We studied a large family from the West Indies islands with a peculiar retinal disease, the Martinique Crinkled Retinal Pigment Epitheliopathy that begins around the age of 30 with retinal pigment epithelium and Bruch's membrane changes resembling a dry desert land, and ends with a retinitis pigmentosa. Whole-exome sequencing identified a heterozygous c.518T>C (p.Leu173Pro) mutation in *MAPKAPK3* that segregates with the disease in 14 affected and 28 unaffected siblings from three generations. This unknown variant is predicted to be damaging by bioinformatic predictive tools, and the mutated protein to be nonfunctional by crystal structure analysis. MAPKAPK3 is a serine/threonine protein kinase of the p38 signaling pathway that is activated by a variety of stress stimuli, and is implicated in cellular responses and gene regulation. In contrast with other tissues, *MAPKAPK3* is highly expressed in the retinal pigment epithelium, suggesting a crucial role for retinal physiology. Expression of the mutated allele in HEK cells revealed a mislocalization of the protein in the cytoplasm, leading to cytoskeleton alteration and cytodieresis inhibition. In *Mapkapk3*<sup>-/-</sup> mice, Bruch's membrane is irregular with both abnormal thickened and thinned portions. In conclusion, we identified the first pathogenic mutation in *MAPKAPK3* associated with a retinal disease. These findings shed new lights on Bruch's membrane/RPE physiopathology and will open studies of this signaling pathway in diseases with retinal pigment epithelium and Bruch's membrane alterations, such as age-related macular degeneration.

**CF24 : DPI pour maladies dominantes avec mutation de novo ou sans apparenté atteint disponible : la prise en charge est possible.****Auteurs :**

Emmanuelle KIEFFER (1), Nadia BIHEMI (1), Nathalie GARDES (1), Jean-Christophe NICOD (1), Claire KASTNER (1), Nicolas BECKER (2), Catherine CELEBI (2), Isabelle KOSCINSKI (3), Olivier PIRRELLO (4), Catherine RONGIERES (4), Philippe GOSSET (1), Céline MOUTOU (5)

1. Laboratoire de Diagnostic Préimplantatoire, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, STRASBOURG, France
2. Laboratoire de Biologie de la Reproduction, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, STRASBOURG, France
3. Laboratoire de Biologie de la Reproduction, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Université de Strasbourg, STRASBOURG, France
4. Service d'Aide Médicale à la Procréation Clinique, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, STRASBOURG, France
5. Laboratoire de Diagnostic Préimplantatoire, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Université de Strasbourg, STRASBOURG, France

**Mots clefs :** DPI, diagnostic préimplantatoire, maladies monogéniques, mutations de novo, génétique moléculaire, PCR multiplex

**Résumé :**

La stratégie diagnostique utilisée habituellement pour le DPI des maladies monogéniques repose sur l'analyse des marqueurs microsatellites associés à l'allèle normal et à l'allèle muté (« haplotypage ») chez la personne qui risque de transmettre la pathologie. Lorsque l'indication est familiale, un test indirect, sans recherche de la mutation, suffit souvent pour l'analyse des embryons.

Cette stratégie doit être adaptée en cas de mutation *de novo* ou lorsqu'il est impossible d'obtenir de l'ADN d'un apparenté atteint. Il faut alors systématiquement rechercher la mutation dans les embryons à l'aide d'un test direct, ce qui implique la mise au point d'un test spécifique pour chaque demande. Toutefois, le phénomène d'*Allele Drop Out* (ADO), inhérent à la technique de PCR sur cellule unique, entraîne parfois l'absence d'amplification d'un allèle. S'il a lieu sur l'allèle muté, il fait apparaître un embryon atteint comme sain à ce locus. L'utilisation de marqueurs informatifs encadrant la mutation est donc indispensable. En l'absence d'apparenté atteint, la détermination de l'haplotype associé à la mutation est moins aisée.

Les contraintes sont différentes selon le sexe de la personne qui porte la mutation. Lorsqu'il s'agit d'un homme, l'haplotypage peut se faire sur spermatozoïdes isolés (sperm typing). La difficulté d'obtention des ovocytes complique l'analyse chez les femmes (l'analyse sur globules polaires est possible mais peu courante). Dans ce cas, c'est au moment du DPI qu'on associe la mutation à son haplotype, à condition d'analyser suffisamment d'embryons pour visualiser un maximum de combinaisons. L'analyse des ADN des parents de la patiente permet au moins d'établir en amont la phase des microsatellites entre eux.

La présence d'une mutation *de novo*, contrairement aux formes familiales, implique un risque éventuel de mosaïque. Une mosaïque somatique peut être suspectée devant un fort taux d'ADO sur l'allèle muté lors de la validation de la technique sur lymphoblastes uniques du patient. Le risque de mosaïque germinale ne peut être anticipé que chez l'homme. Sur spermatozoïdes, on trouvera le même haplotype, associé soit à l'allèle muté, soit à l'allèle normal. Par mesure de précaution, dans tous les cas, seuls les embryons porteurs de l'haplotype sain sont considérés comme transférables.

Entre 2010 et 2015, nous avons développé 38 tests de DPI pour mutations *de novo* ou en cas d'indisponibilité de l'ADN d'apparentés atteints. Au total, 31 cycles ont été réalisés pour 20 couples et ont abouti à la naissance de 4 enfants en bonne santé. De plus, trois grossesses sont en cours.

En conclusion, malgré sa complexité, le DPI pour maladies dominantes avec mutation *de novo* ou sans apparenté atteint disponible est réalisable. Il est cependant indispensable que les couples bénéficient d'une information claire et adaptée et soient avertis en amont des difficultés qui pourraient survenir au moment de la tentative.



**8**  
èmes

ASSISES DE **GÉNÉTIQUE** HUMAINE ET MÉDICALE  
**LYON**, CITÉ INTERNATIONALE 3, 4 ET 5 FÉVRIER **2016**

[www.assises-genetique.org](http://www.assises-genetique.org)

POSTERS

COMPLIANT APPROVED BY



Infos générales & inscriptions: [mary.abbas@mcocongres.com](mailto:mary.abbas@mcocongres.com)  
Infos sponsoring & partenariat: [natalie.ruxton@mcocongres.com](mailto:natalie.ruxton@mcocongres.com)



---

POSTERS

BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

---

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #2287 : Reciprocal translocations associated to fertility impairment in Tunisia: Preponderance of translocations involving chromosome 4 and recurrence of 4p15-16 breakpoints

#### Auteurs :

Nouha Abdelmoula Bouayed (1), Khaled Trigui (2), Oldez kaabi (1), Walid Smaoui (3), Rim Louati (1)

1. Service d'Histologie Génétique, , Faculté de Médecine de Sfax, Sfax, Tunisie
2. Service de Gynécologie, CHU Hédi Chaker de Sfax, Sfax, Tunisie
3. Service d'Urologie, CHU Hbib Bourguiba de Sfax, Sfax, Tunisie

**Mots clefs :** Reproduction Failure, Translocations, 4p15-1

#### Résumé :

Reproduction failure including the inability to achieve conception or carry on a pregnancy through to live birth is frequent and affects about 15% of couples. Reciprocal translocations are among the most frequent chromosomal aberrations found in humans and balanced type shows a significantly high frequency in infertile men, couples harbouring unsuccessful assisted reproduction attempts as well as those being evaluated for recurrent pregnancy loss.

Here, we report 24 reciprocal translocations detected in 1869 patients complaining for reproduction failure and seen at our genetic counselling for cytogenetic assessment (1,28%). Among them, the most frequent involved chromosomes are chromosome 4 (n=6) and chromosomes 1 and 6 (n=5 for each chromosome). Reciprocal translocations involving chromosome 4 (25%) demonstrate recurrent breakpoint localization at 4p15-16 (4 cases). The second concerned chromosome at these translocations was chromosome 6 in two cases (6p22 and 6q24) and chromosome 9 (9p21) in the group of infertile men and chromosome 17 (17p12), chromosome 8 (8q22), and chromosome 1 (1q31) in the group of couples with recurrent miscarriages: 46,XY,t(4;6)(q34;q24); 46,XY,t(4;6)(p15.2;p22); 46,XY,t(4;9)(p15.3;p21); 46,XY,t(4;17)(p16;p12); 46,XX,t(4;8)(p15.3;q22-23); and 46,XX,t(1;4)(q31;q26). Studies of recurrent break points of translocations offer a precious opportunity to target specific genomic regions and candidate genes. Through interrogation of genetic databases, three genes mapped at the 3 chromosomal regions involved in these six translocations, can be suggested as the disturbed ones by chromosomal rearrangements, conducting to the fertility impairment phenotype: the gene encoding LCORL (4p15.31) which is highly expressed in testis, specifically in seminiferous tubules and spermatocytes, the PGRMC2 gene (4q26) with highest expression in placenta, and the ADAM29 gene (4q34.2-qter) highly expressed in testis and involved in human spermatogenesis, encoding a member of the ADAM family implicated in a variety of biological processes including fertilization. The association between the 3 genes reported here and male infertility as well as reproduction failure is not yet investigated. Genotype and phenotype correlation studies coupled to microarray-based genome-wide studies from large numbers of patients could shed more light on our hypothesis.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #2291 : Rare non-synonymous variations in the human ferroportin iron transporter gene (haemochromatosis type 4): the quest for causal mutations

#### Auteurs :

Gerald LE GAC (1)

1. Inserm UMR1078, Laboratoire de Génétique Moléculaire et Histocompatibilité, CHRU de Brest, BREST, France

**Mots clefs :** Interpretation of genetic variants, Missense variations, Protein structure homology-modeling, Biochemical studies, Inborn error of metabolism, Haemochromatosis,

#### Résumé :

Gérald Le Gac<sup>2</sup>, Isabelle Callebaut<sup>1</sup>, Serge Pissard<sup>3</sup>, Caroline Kannengiesser<sup>4</sup>, Victoria Gérolami<sup>5</sup>, Cécile Ged<sup>6</sup>, François Cartault<sup>8</sup>, Chandran Ka<sup>2</sup>, Jacques Rochette<sup>7</sup>, Claude Férec<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Inserm U1078, Université de Brest, SFR SInBioS, CHRU de Brest, Laboratoire de Génétique Moléculaire et d'Histocompatibilité, Etablissement Français du Sang - Bretagne, Brest, France

<sup>2</sup>IMPMC, Sorbonne Universités – UMR CNRS 7590, UPMC Univ Paris 06, Muséum d'Histoire Naturelle, IRD UMR 206, Paris, France

<sup>3</sup>UPEC (Université Paris Est Creteil), GHU Henri Mondor, Laboratoire de Génétique, Créteil, France

<sup>4</sup>Inserm U1149 - Center for Research on Inflammation, Université Paris Diderot, AP-HP, Hôpital Bichat, Département de Génétique, Paris, France

<sup>5</sup>CHU de Marseille, Hôpital Conception, Biologie Moléculaire

<sup>6</sup>Inserm U1035, Biothérapies des Maladies Génétiques et Cancers, Université de Bordeaux, CHU de Bordeaux, Pôle de Biologie et Pathologie, Bordeaux, France

<sup>7</sup>UPJV EA4666, CHU d'Amiens, Laboratoire de Génétique Moléculaire, Amiens, France <sup>8</sup>CHU de la Réunion, Service de Génétique, Saint-Denis, France; <sup>9</sup>Inserm CIC0502, CHRU de Brest, Brest, France

Haemochromatosis type 4 is a rare form of primary iron overload transmitted as an autosomal dominant trait caused by mutations in the gene encoding the iron transport protein ferroportin 1 (*SLC40A1*). *SLC40A1* mutations fall into two functional categories (loss- versus gain-of-function) underlying two distinct clinical entities (haemochromatosis type 4A-B). However, the vast majority of *SLC40A1* mutations are rare missense variations, with only a few showing strong evidence of causality. The present study reports the results of an integrated approach collecting genetic and phenotypic data from 44 suspected haemochromatosis type 4 patients, with comprehensive structural (3D model) and functional annotations.<sup>1,2</sup> Causality was demonstrated for 10 missense variants, showing a clear dichotomy between the two haemochromatosis type 4 subtypes. Two subgroups of loss-of-function mutations were distinguished: one impairing cell surface expression and one altering only iron egress. A new gain-of-function mutation was identified, and the degradation of ferroportin on hepcidin binding was shown to probably depend on the integrity of a large extracellular loop outside of the hepcidin-binding domain. Eight further missense variations, on the other hand, were shown to have no discernible effects at either protein or RNA level; these were found in apparently isolated patients and were associated with a less severe phenotype. The present findings illustrate the importance of combining in-silico and biochemical approaches to fully distinguish pathogenic *SLC40A1* mutations from benign variants. This has profound implications for patient management.

<sup>1</sup> Le Gac G *et al.* Hum Mut. 2013;34:1371-80

<sup>2</sup> Callebaut I *et al.* Hum Mol Genet. 2014;23:4479-90.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

**#2292 : Nouvelles recommandations de prise en charge des patients atteints de syndrome de Cohen, présentant un risque de développer un diabète de type II et des complications cardiaques.**

### Auteurs :

floriane limoge (1), laurence faivre (1), thomas gautier (2), jean-michel petit (3), elodie gautier (4), david masson (2), gaetan jego (2), salima el chehadah-djebbar (1), nathalie marle (1), virginie carmignac (1), valérie deckert (2), marie-claude brindisi (3), patrick edery (5), jamal ghomid (6), edward blair (7), laurent lagrost (2), christel thauvin-robinet (1), laurence duplomb (1)

1. GAD EA4271, Université de Bourgogne, dijon, France
2. Inserm UMR\_866, Université de Bourgogne, dijon, France
3. service d'endocrinologie, CHU Dijon, dijon, France
4. FHU Translad, CHU Dijon, dijon, France
5. Service de génétique clinique, CHU Lyon, lyon, France
6. Centre de Référence Maladies Rares Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs Nord, CHRU Lille, lille, France
7. Department of Clinical Genetics, The Churchill Hospital, Oxford, oxford, Royaume Uni

**Mots clefs :** syndrome de Cohen, diabète de type II, nouvelles recommandations cliniques

### Résumé :

Le syndrome de Cohen (SC) est une maladie autosomique récessive rare, due à des mutations gène *VPS13B* qui code pour une protéine de l'appareil de Golgi. Celui-ci est désorganisé dans les cellules déficientes en *VPS13B*, ce qui s'accompagne de défauts majeurs de glycosylations des protéines. En plus de la neutropénie, de la rétinopathie et de la déficience intellectuelle, les patients atteints du SC sont dits présenter une obésité tronculaire. Cependant, peu de données sur l'impact de cette obésité (diabète de type II, maladies cardiovasculaires, syndrome métabolique...) sont disponibles, ou sont incomplètes. Notre étude a été réalisée à partir 14 patients, chez lesquels plusieurs points ont été analysés (poids, taille, IMC, circonférence abdominale, glycémie à jeun, test d'hyperglycémie provoqué orale (HGPO), métabolisme lipidique, hormonal, et IRM ou échographie pour diagnostic de stéatose). Tous nos patients âgés de plus de 12 ans ont une large circonférence abdominale, mais seuls 3 d'entre eux ont un IMC supérieur à 30 en faveur d'une obésité, 1 a une IMC compris entre 25 et 30 correspondant à un de surpoids, et tous les autres sont normaux. Les investigations métaboliques montrent des anomalies dans les tests de tolérance au glucose ainsi que des taux de HDL bas pour 70% des patients. Ces informations montrent que les patients sont à risque de développer un diabète de type II ainsi que des complications cardiovasculaires. Cette étude sur le risque de développement d'un diabète de type II est confirmée par des études fonctionnelles. Grâce à 2 modèles cellulaires déficients en *VPS13B* (lignée de préadipocytes SGBS invalidées par siRNA pour *VPS13B* et fibroblastes primaires de patients), nous montrons que les cellules, après avoir accumulé trop de triglycérides à cause d'une réponse exagérée à l'insuline, répondent beaucoup moins bien à cette hormone. Cette étude nous permet donc d'établir de nouvelles recommandations pour le suivi clinique des patients atteints du SC. Tout d'abord, les mesures et calculs d'IMC ne sont pas en faveur d'une réelle obésité comme cela est décrit dans le tableau de critères du SC: nous proposons donc de remplacer le terme d'obésité par "répartition anormale des graisses". Ceci devrait réduire le nombre inapproprié de patients qui sont adressés pour diagnostic moléculaire du SC simplement sur la base d'une déficience intellectuelle associée à une obésité. Ensuite, les patients doivent être informés de leur risque de développer un diabète de type II, de leurs risques cardiovasculaires, et éventuellement de syndrome métabolique. Ainsi, nous recommandons une éducation nutritionnelle, préventive afin de retarder le développement du diabète de type II chez les patients, ainsi qu'un suivi clinique approprié : tension artérielle, taux plasmatique de HDL, glycémie et hémoglobine glyquée une fois par an, ainsi qu'une HGPO au cours de l'adolescence puis tous les 5 ans.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

**#2293 : La mutation JAK2-V677F et les mutations de la calréticuline chez les patients thromboemboliques de l'est algérien.**

### Auteurs :

Samira Moussaoui (1), Saussoy Pascale (2), Karima Sifi (3), Noredine Abadi (3)

1. Laboratoire de recherche en biologie et génétique moléculaire, , CHU Dr Benbadis rue Bensghir-Abdelwahed 25000, Constantine, Algeria., Constantine, Algérie

2. Laboratoire de biologie moléculaire, cliniques Saint Luc, Université Catholique de Louvain (UCL), Brussels, Belgique, Brussels, Belgique

3. Laboratoire de recherche en biologie et génétique moléculaire, , CHU Dr Benbadis rue Bensghir-Abdelwahed 25000, Constantine, Algeria., Constatine, Algérie

**Mots clefs :** maladie thromboembolique veineuse, JAK2-V677F, calréticuline, thrombose veineuse profonde.

### Résumé :

La MTEV est une maladie multifactorielle dans laquelle la composante génétique est importante. La majorité des facteurs génétiques affectent les fonctions de la voie naturelle de l'anticoagulation par la protéine C, cependant des études récentes suggèrent le rôle des facteurs de l'hématopoïèse dans l'étiologie de la maladie. L'objectif de l'étude était d'évaluer les mutations du JAK2-V617F et la CALR chez les patients thrombotiques de l'est algérien. 121 patients et 146 témoins ont été recrutés au cours de cette étude. Les mutations du JAK2 V617F et la calréticuline sont analysées par q-PCR et PCR suivi d'un séquençage par électrophorèse capillaire respectivement.

Parmi les sujets recrutés personne ne portait les mutations de la calréticuline. Seulement un seul patient identifié positif pour la mutation JAK2 V617F avec un taux de 15%.

Notre étude montre que les mutations somatiques du JAK2 V677F et la calréticuline sont des causes moins fréquentes de la MTEV, ainsi leur introduction aux tests de routine n'est pas recommandée.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

**#2294 : La mutation JAK2-V677F et les mutations de la calréticuline chez les patients thromboemboliques de l'est algérien.**

### Auteurs :

Samira Moussaoui (1), Saussoy Pascale (2), Karima Sifi (3), Noredine Abadi (3)

1. Laboratoire de recherche en biologie et génétique moléculaire, , CHU Dr Benbadis rue Bensghir-Abdelwahed 25000, Constantine, Algeria., Constantine, Algérie

2. Laboratoire de biologie moléculaire, cliniques Saint Luc, Université Catholique de Louvain (UCL), Brussels, Belgique, Brussels, Belgique

3. Laboratoire de recherche en biologie et génétique moléculaire, , CHU Dr Benbadis rue Bensghir-Abdelwahed 25000, Constantine, Algeria., Constatine, Algérie

**Mots clefs :** maladie thromboembolique veineuse, JAK2-V677F, calréticuline, thrombose veineuse profonde.

### Résumé :

La MTEV est une maladie multifactorielle dans laquelle la composante génétique est importante. La majorité des facteurs génétiques affectent les fonctions de la voie naturelle de l'anticoagulation par la protéine C, cependant des études récentes suggèrent le rôle des facteurs de l'hématopoïèse dans l'étiologie de la maladie. L'objectif de l'étude était d'évaluer les mutations du JAK2-V617F et la CALR chez les patients thrombotiques de l'est algérien. 121 patients et 146 témoins ont été recrutés au cours de cette étude. Les mutations du JAK2 V617F et la calréticuline sont analysées par q-PCR et PCR suivi d'un séquençage par électrophorèse capillaire respectivement.

Parmi les sujets recrutés personne ne portait les mutations de la calréticuline. Seulement un seul patient identifié positif pour la mutation JAK2 V617F avec un taux de 15%.

Notre étude montre que les mutations somatiques du JAK2 V677F et la calréticuline sont des causes moins fréquentes de la MTEV, ainsi leur introduction aux tests de routine n'est pas recommandée.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #2300 : Identification de 5 nouveaux gènes et caractérisation de 3 complexes ciliaires impliqués dans les syndromes oro-facio-digitaux

#### Auteurs :

Ange-Line Bruel (1), Jean-Baptiste Rivière (1), Brunella Franco (2), Lydie Burglen (3), Isabelle Desguerres (4), Geneviève Pierquin (5), Bérénice Doray (6), Brigitte Gilbert-Dussardier (7), Reversade Bruno (8), Elisabeth Steichen-Berger (9), Clarisse Baumann (10), Inusha Panigrahi (11), Anne Fargeot-Espaliat (12), Anne Dieux (13), Albert David (14), Alice Goldenberg (15), Ernie Bongers (16), Dominique Gaillard (17), Jesús Argente (18), Yannis Duffourd (1), Bernard Aral (19), Nadège Gigot (1), Judith St-Onge (1), Estelle Lopez (1), Jego Laurence (1), Julien Thevenon (1), Diane Doummar (3), Rachel Giles (20), Colin A. Johnson (21), Martijn A. Huynen (22), Véronique Chevrier (23), Daniel Birnbaum (23), Shubha Phadke (24), Valérie Cormier-Daire (25), Thibaut Eguether (26), Gregory J. Pazour (26), Vicente Herranz-Pérez (27), Jaclyn S. Lee (28), Laurent Pasquier (29), Philippe Loget (30), Sophie Saunier (31), André Mégarbané (32), Olivier Rosnet (23), Michel R. Leroux (33), John B. Wallingford (34), Oliver E. Blacque (35), Maxence V. Nachury (36), Tania Attie-Bitach (25), Laurence Faivre (1), Christel Thauvin-Robinet (1)

1. FHU-TRANSLAD, Équipe EA42271 GAD, Université Bourgogne-Franche Comté/CHU Dijon, Dijon, France
2. Telethon Institute of Genetics and Medicine-TIGEM, Department of Medical Translational Sciences, Div, Federico II University of Naples, Naples, Italie
3. Laboratoire de Neurogénétique Moléculaire, Hôpital d'Enfants Armand-Trousseau, CHU Paris, Paris, France
4. Service de neurométabolisme, Hôpital Necker-Enfants Malades, CHU Paris, Paris, France
5. Service de Génétique, CHU Liège, Liège, Belgique
6. Service de Génétique Médicale, Hôpital de Hautepierre, CHU Strasbourg, Strasbourg, France
7. Service de Génétique Médicale, CHU Poitiers, Poitiers, France
8. Laboratory of Human Embryology and Genetics, Institute of Medical Biology, Singapore, Singapour
9. Department of Pediatrics I, Innsbruck Medical University, Innsbruck, Autriche
10. Département de Génétique, Unité Fonctionnelle de Génétique Clinique, Hôpital Robert Debré, CHU Paris, Paris, France
11. Department of Pediatrics Advanced, Pediatric Centre Pigmer, Chandigarh, Inde
12. Pédiatrie Neonatalogie, Centre Hospitalier Général Brive-la-Gaillarde, Brive, France
13. Centre de Référence CLAD NdF, Service de Génétique Clinique, Service de Génétique Clinique, Hôpital Jeanne de Flandre, CHRU Lille, Lille, France
14. Service de Génétique Médicale, Unité de Génétique Clinique, Hôpital Mère-Enfant, CHU Nantes, Nantes, France
15. Unité de Génétique Clinique, Hôpital Charles Nicolle, CHU Rouen, Rouen, France
16. Department of Human Genetics, Radboud University Nijmegen, Nijmegen, Pays-Bas
17. Service de Génétique, Hôpital Maison Blanche, CHRU Reims, Reims, France
18. Departamento de Pediatría, Universidad Autónoma de Madrid, Sección de Endocrinología Pediátrica, Hospital Niño Jesús, Madrid, Madrid, Espagne
19. Laboratoire de Génétique Moléculaire, PTB, CHU Dijon, Dijon, France
20. Department of Nephrology and Hypertension, University Medical Center Utrecht, Utrecht, Pays-Bas
21. Section of Ophthalmology and Neurosciences, Leeds Institute of Molecular Medicine, University of Leeds, Leeds, Royaume Uni
22. Centre for Molecular and Biomolecular Informatics, Radboud Institute for Molecular Life Sciences, Radboud university medical center, Nijmegen, France
23. Centre de Recherche en Cancérologie de Marseille, INSERM UMR1068, Institut Paoli-Calmettes, CNRS U7258, Aix-Marseille Université, Marseille, France
24. Department of Medical Genetics, Sanjay Gandhi Post Graduate Institute of Medical Sciences, Lucknow, Uttar Pradesh, Uttar Pradesh, Inde
25. INSERM U781, Département de Génétique, Institut IMAGINE, Hôpital Necker-Enfants Malades Paris, Paris, France
26. Program in Molecular Medicine, University of Massachusetts Medical School, Worcester, Massachusetts, Worcester, Etats-Unis
27. Laboratorio de Neurobiología Comparada, Unidad mixta de Esclerosis múltiple y neuroregeneración, Instituto Cavanilles, Universitat de València, IIS Hospital La Fe-UEVEG, Valencia, Espagne
28. Department of Molecular and Cellular Physiology, Stanford University School of Medicine, Stanford, France
29. Centre de Référence Maladies Rares « Anomalies du Développement et Syndromes malformatifs » de l'Oue, CHU Rennes, Rennes, France
30. Laboratoire d'Anatomie-Pathologie, CHU Rennes, Rennes, France

31. Département de Génétique, INSERM U983, Institut IMAGINE, Hôpital Necker-Enfants Malades Paris, Paris, France
32. Unité de Génétique Médicale, Faculté de Médecine, Université Saint-Joseph, Beirut Lebanon, Beyrouth, Liban
33. Department of Molecular Biology and Biochemistry and Centre for Cell Biology, Development and Diseases, Simon Fraser University, Burnaby, British Columbia , Burnaby, Canada
34. Department of Molecular Biosciences, Center for Systems and Synthetic Biology, and Institute for Cell, Howard Hughes Medical Inst, University of Texas at Austin, Austin, Etats-Unis
35. School of Biomolecular and Biomedical Science, UCD Conway Institute, University College Dublin, Belfield, Dublin , Dublin, Irlande
36. Department of Molecular and Cellular Physiology, Stanford University School of Medicine, Stanford, Etats-Unis

**Mots clefs :** syndromes oro-facio-digitaux, TMEM107, INTU, KIAA0753, IFT57, C2CD3

**Résumé :**

Les syndromes oro-facio-digitaux (OFD) sont caractérisés par la présence d'une atteinte orale, faciale et digitale. L'incidence est estimée entre 1/50000 et 1/250000 naissances avec une fréquence plus élevée pour l'OFD de type I. Leur classification initiale en 14 sous-types, est basée principalement sur leur mode de transmission et leurs signes cliniques associés (malformations cérébrales, rénales, dysplasie osseuse, atteinte rétinienne,...) avec principalement les syndromes OFD I (polykystose rénale, agénésie du corps calleux), OFD IV (dysplasie tibiale), OFD VI (hypoplasie vermineuse avec signe de la dent molaire, polydactylie mésoaxiale) et OFD IX (atteinte rétinienne). Pendant longtemps seul le gène *OFD1*, responsable du type I et codant pour une protéine centrosomale et du corps basal, était principalement connu, faisant suspecter l'implication du cil primaire dans les syndromes OFD. Des mutations ont été rapportées récemment dans les gènes *TMEM216*, *DDX59*, *WDPCP*, *SCLT1*, *TBC1D32* et *TCTN3* chez un ou deux patients. Au cours des 15 dernières années, nous avons constitué une cohorte internationale de 115 cas index atteints de syndrome OFD, dont environ la moitié est porteuse d'une mutation du gène *OFD1* (59/115). Dans le but d'identifier de nouveaux gènes impliqués dans ces syndromes, nous avons réalisé une stratégie de séquençage haut débit d'exome chez 23 patients (5 OFDVI, 18 OFD inclassables). Chez 13/23 patients (56.5%), cette stratégie a permis d'identifier 5 nouveaux gènes (*C2CD3*, *TMEM107*, *INTU*, *KIAA0753*, *IFT57*), d'étendre aux syndromes OFD le spectre clinique de 3 gènes déjà connus dans d'autres ciliopathies (*C5orf42*, *TMEM138*, *TMEM231*) et de confirmer l'implication de 3 gènes déjà connus comme responsable de syndrome OFD (*OFD1*, *DDX59*, *WDPCP*). Les analyses fonctionnelles (in vitro, modèles murins, zebrafish, xenopus, c. elegans) ont montré l'implication de la croissance centriolaire, de la zone de transition et du transport intraflagellaire, avec notamment la caractérisation de 3 complexes protéiques principaux : le complexe ternaire KIAA0753/OFD1/FOPNL, régulant la croissance centriolaire, le complexe MKS (*TMEM107*, *TMEM231*, *TMEM216*) constituant majeur de la zone de transition et le complexe C-PLANE (*INTU*/*FUZ*/*WDPCP*), favorisant l'assemblage des protéines périphériques du complexe de transport intraflagellaire IFT-A. En conclusion, cette étude, la plus importante consacrée aux syndromes OFD, démontre la très grande hétérogénéité clinique et génétique de ces syndromes, de même que de nombreux allélismes avec d'autres ciliopathies. Elle étend à 15 le nombre de gènes causaux, rendant la classification clinique initiale de 14 sous-types totalement obsolète et permettant de considérer les syndromes OFD comme un nouveau sous-groupe de ciliopathies à part entière.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #2314 : Diagnostic moléculaire de l'hypophosphatasie et diagnostic différentiel par NGS ciblé

#### Auteurs :

Agnès Taillandier (1), Christelle Domingues (1), Clémence De Cazanove (1), Valérie Porquet-Bordes (2), Sophie Monnot (3), Tina Kiffer-Moreira (4), Anya Rothenbuhler (5), Pascal Guggenbuhl (6), Catherine Cormier (7), Geneviève Baujat (8), Françoise Debiais (9), Yline Capri (10), Martine Cohen-Solal (11), Philippe Parent (12), Jean Chiesa (13), Anne Dieux (14), Florence Petit (14), Joelle Roume (15), Valérie Cormier-Daire (8), Agnès Linglart (5), Jose-Luis Millan (4), Jean-Pierre Salles (2), Christine Muti (1), Brigitte Simon-Bouy (1), Etienne Mornet (1)

1. Génétique constitutionnelle, Centre Hospitalier de Versailles, Le Chesnay, France
2. Endocrinologie, CHU Toulouse, Toulouse, France
3. Génétique moléculaire, CHU Necker-Enfants Malades, Paris, France
4. Discovery Institute, Sanford Children's Health Research Center, La Jolla, Etats-Unis
5. Endocrinologie pédiatrique, CHU Kremlin-Bicêtre, Paris, France
6. Rhumatologie, CHU Rennes, Rennes, France
7. Rhumatologie, CHU Cochin, Paris, France
8. Centres de référence maladies osseuses constitutionnelles (MOC), CHU Necker-Enfants Malades, Paris, France
9. Rhumatologie, CHU Poitiers, Poitiers, France
10. Rhumatologie, CHU Robert Debré, Paris, France
11. Rhumatologie, CHU Lariboisière, Paris, France
12. Génétique clinique, CHU Brest, Brest, France
13. Génétique clinique, CHU Nimes, Nimes, France
14. Génétique clinique, CHRU Lille, Lille, France
15. Génétique clinique, CH Poissy-St-Germain, Poissy, France

**Mots clefs :** Hypophosphatasie, diagnostic différentiel, ostéogénèse imparfaite, NGS

#### Résumé :

L'hypophosphatasie (HPP) est une dysplasie squelettique rare due à des mutations dans le gène *ALPL* codant la phosphatase alcaline tissu-non spécifique (TNSALP). Le spectre clinique est extrêmement large, allant d'une forme *in utero* le plus souvent létale à une forme très modérée affectant uniquement la minéralisation dentaire (odontohypophosphatasie). Jusqu'à maintenant le diagnostic génétique de l'HPP était réalisé par séquençage par la méthode de Sanger du gène *ALPL*. L'ostéogénèse imparfaite (OI) et la dysplasie campomélique (DC) sont les principaux diagnostics différentiels de l'HPP, si bien qu'en cas de résultat négatif pour le gène *ALPL*, les gènes de l'OI et de la DC doivent souvent être analysés, ce qui allonge le délai avant le diagnostic. Les gènes *COL1A1* et *COL1A2* comportent chacun plus de 50 exons, ce qui rend leur séquençage par la méthode de Sanger long et coûteux. Nous avons développé une puce de séquençage par NGS ciblant le gène *ALPL*, les gènes *COL1A1* et *COL1A2* dont les mutations représentent 90% des OI, et *SOX9* responsable de la DC, ainsi que des gènes potentiellement modificateurs de l'HPP. Nous présentons ici les résultats obtenus sur une période de 18 mois et nous montrons que cette stratégie est efficace et utile pour limiter le délai du diagnostic et les coûts de séquençage. Quarante-six patients ont été testés durant cette période. Parmi les 17 patients portant au moins une mutation dans le gène de l'HPP ou dans un gène de l'un de ses diagnostics différentiels, 15 étaient adressés pour suspicion de HPP et deux pour DC. Parmi les 15 patients adressés pour suspicion d'HPP, 10 portaient une (ou des) mutation(s) dans le gène *ALPL* et 5 dans *COL1A1* ou *COL1A2*, dont 2 fœtus et 3 adultes présentant des fractures et/ou une faible densité osseuse. Ces résultats indiquent que HPP et OI peuvent être parfois confondues en contexte prénatal mais aussi chez l'adulte présentant des symptômes modérés de ces pathologies.

Taillandier A. *et al.* 2015, Mol Genet Metab (sous presse)

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #2315 : La fréquence du polymorphisme C677T de la méthylène tétrahydrofolate réductase dans les cancers digestifs chez des patients Algériens

#### Auteurs :

Karima Sifi (1), Sabah Hanachi (1), Khadidja Boudaoud (2), Yasmina Chafika Amrane (3), Chérifa Benlatreche (4), Taha Filalai (5), Noredine Abadi (1)

1. Laboratoire de biochimie, laboratoire de recherche de biologie et de génétique moléculaire, Faculté de médecine université 3 de constantine, CHU de Constantine, Constantine, Algérie
2. Service de radiothérapie, laboratoire de recherche de biologie et de génétique moléculaire, Faculté de médecine université 3 de constantine, CHU de Constantine, Constantine, Algérie
3. Laboratoire d'anatomie, Faculté de médecine université 3 de constantine, CHU de Constantine, Constantine, Algérie
4. Laboratoire de biochimie, laboratoire de recherche de biologie et de génétique moléculaire, Faculté de médecine université 3 de constantine, CHU de Constantine, Constantine, France
5. service d'oncologie médicale CHU de Constantine, Faculté de médecine université 3 de constantine, CHU de Constantine, Constantine, Algérie

**Mots clefs :** MTHFR, Polymorphisme C677T, Cancer colorectal, Cancer gastrique, patients Algériens

#### Résumé :

##### Introduction

La 5,10 méthylène tétrahydrofolate réductase (MTHFR) est une enzyme clé du métabolisme des folates. Elle catalyse de façon irréversible la conversion du 5,10 méthylène tétrahydrofolate en 5 méthyl tétrahydrofolate, un substrat clé donneur de carbone, pour la reméthylation de l'homocystéine. L'activité de la MTHFR varie selon les polymorphismes du gène de l'enzyme et de l'apport alimentaire en folates. Le polymorphisme C677T de la MTHFR qui crée une enzyme thermolabile, possédant une activité réduite, semble interférer avec les phénomènes de la carcinogenèse en diminuant le taux de méthylation de l'ADN le rendant instable et en contrôlant la synthèse de l'ADN. Ce polymorphisme est celui qui a fait l'objet du grand nombre d'étude dans le cadre des cancers digestifs.

##### Objectifs

- Déterminer les fréquences alléliques et génotypiques du polymorphisme C677T de la MTHFR chez des patients présentant des cancers digestifs (gastrique et colorectal) et chez des témoins.
- Evaluer l'effet de ce polymorphisme sur le risque de survenue de ces deux cancers digestifs.

##### Patients et méthodes

30 patients ayant présenté un cancer gastrique (CG), 52 patients ayant un cancer colorectal (CCR) et 92 témoins ont été génotypés pour le polymorphisme C677T de la MTHFR par PCR/RFLP après un consentement éclairé.

##### Résultats :

Les fréquences des allèles 677T et 677C de la MTHFR étaient de 34,92% et 65,07%, respectivement, dans le groupe des témoins, de 43,75% et 56,25%, respectivement, pour les patients présentant un CCR et de 25% et 75%, respectivement chez les patients présentant un CG.

Des odds ratio avec un intervalle de confiance à 95% ont été calculés à fin de déterminer un lien possible entre le polymorphisme C677T de la MTHFR et la survenue des cancers colorectal et de l'estomac.

Les odds ratios pour les génotypes 677 T/T vs 677 C/C et 677 C/T vs 677 C/C étaient 9.82 (0.9-19.54) ( $p < 0.05$ ) et 1.4 (0.9-2.3) ( $p < 0.05$ ) respectivement dans le CCR et de 1,23 ( $p = 0,55$ ) et 0,62 (0,23-1,65) ( $p = 0,20$ ) respectivement dans le CG.

##### Discussion

Les odds ratios calculés ont montré que le polymorphisme C677T MTHFR ne contribue pas significativement à la susceptibilité génétique du cancer de l'estomac, tandis que nous avons montré la contribution possible de ce polymorphisme génétique au développement du cancer colorectal.

L'association de la mutation C677T de la MTHFR avec le risque de cancer gastrique reste obscure en raison des résultats très contradictoires dans des études indépendantes entre diverses ethnies.

##### Conclusion

Nos résultats concordent avec certaines données de la littérature.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #2316 : Le polymorphisme C677T de la MTHFR et l'homocystéinémie dans la population générale de Constantine

#### Auteurs :

Karima Sifi (1), Sabah Hanachi (1), Amel Smira (2), Chérifa Benlatreche (3), Noredine Abadi (1)

1. Laboratoire de biochimie, laboratoire de recherche de biologie et de génétique moléculaire, Faculté de médecine université 3 de constantine, CHU de Constantine, Constantine, Algérie
2. Laboratoire de biochimie, laboratoire de recherche de biologie et de génétique moléculaire, CHU de constantine, Constantine, France
3. Laboratoire de biochimie, laboratoire de recherche de biologie et de génétique moléculaire, Faculté de médecine université 3 de constantine, CHU de Constantine, Constantine, France

**Mots clefs :** MTHFR, Polymorphisme C677T, Homocystéinémie, population générale de Constantine

#### Résumé :

##### Introduction

L'homocystéine est un acide aminé intermédiaire dans le métabolisme de la méthionine. Sa teneur dans le plasma dépend de nombreux facteurs, parmi lesquels le statut en folates, en vitamines B<sub>12</sub> et B<sub>6</sub> et le polymorphisme génétique C677T du gène de la méthylène-tétrahydrofolate réductase enzyme principale dans le métabolisme de l'homocystéine. Ce dernier provoque de graves hyperhomocystéinémies surtout à l'état homozygote.

Il est désormais démontré qu'il existe une relation indiscutable entre l'hyperhomocystéinémie et les maladies cardiovasculaires, la maladie thromboembolique veineuse, la démence, les défauts de fermeture du tube neural, les maladies inflammatoires chroniques du tube digestif et certains cancers. Sa causalité directe reste cependant controversée.

##### Les objectifs de notre travail étaient de :

- Déterminer les concentrations plasmatiques de l'homocystéine dans un échantillon de population générale de Constantine.
- Déterminer les fréquences alléliques et génotypiques du polymorphisme C677T dans cette même population et de comparer nos résultats à ceux établis dans d'autres populations du monde.

##### Patients et méthodes

Notre population d'étude se compose de 101 sujets de la population générale de Constantine. La mutation C677T du gène de la MTHFR a été recherchée par PCR /Digestion par l'enzyme de restriction HinfI. Les taux d'homocystéinémie ont été déterminés chez tous les sujets par chimiluminescence. Un consentement éclairé a été obtenu de tous les sujets de la population d'étude.

##### Résultats

La concentration moyenne de l'homocystéinémie est de  $17,83 \pm 8,25$  pmol/l chez les hommes et de  $13,58 \pm 8,17$  pmol/l chez les femmes. Elle est significativement plus élevée chez les hommes,  $p=0.00866 < 0.05$ .

Une élévation significative de l'homocystéinémie a été observée dans la tranche d'âge 31- 40 ans et après 50 ans  $p=0.0001$ .

40,60 % de nos patients sont homozygotes C/C, 52,47% hétérozygotes C/T et 6,93% homozygotes T/T.

Notre étude a montré que les homocystéinémies sont plus élevées dans le génotype TT par rapport au génotype CC, avec une différence significative  $p = 0,002777 < 0.05$ . Par contre nous n'avons pas trouvé de différence significative entre les taux élevés d'homocystéinémies dans le génotype CT vs CC  $p = 0,678769 > 0.05$ .

**Conclusion :** les résultats de notre étude ont montré une relation directe entre le génotype T677T et l'élévation du taux d'homocystéinémies et ont confirmés les données de la littérature concernant les situations d'élévation du taux d'homocystéinémie.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #2321 : Impact du polymorphisme de l'apolipoprotéine E sur les maladies cardiovasculaires chez des patients Algériens

#### Auteurs :

Karima Sifi (1), Yamina Sifi (2), Sabah Hanachi (1), Djamel Khodja (1), Chérifa Benlatreche (3), Abdelmadjid Hamri (2), Noredine Abadi (1)

1. Laboratoire de biochimie, laboratoire de recherche de biologie et de génétique moléculaire, Faculté de médecine université 3 de constantine, CHU de Constantine, Constantine, Algérie
2. service de neurologie ,laboratoire de recherche de biologie et de génétique moléculaire, Faculté de médecine université 3 de constantine, CHU de Constantine, Constantine, Algérie
3. Laboratoire de biochimie, laboratoire de recherche de biologie et de génétique moléculaire, Faculté de médecine université 3 de constantine, CHU de Constantine, Constantine, France

**Mots clefs :** Polymorphisme de l'apoE, Allèle Epsilon 4 , Maladies cardiovasculaires

#### Résumé :

##### Introduction

L'apolipoprotéine E (apoE) est l'une des protéines constitutives des lipoprotéines plasmatiques, principalement celles riches en triglycérides : les chylomicrons ,les VLDL et leurs résidus. Le gène de l'apolipoprotéine E est le siège de polymorphisme donnant différents types de protéines conduisant à des modulations du métabolisme lipoprotéines. Il existe une relation entre ce polymorphisme et le risque de maladies cardiovasculaires. Plusieurs études ont montré que l'expression de l'allèle Epsilon 4 (E4) du gène de l'apoE est pourvoyeur de mortalité par maladie cardiovasculaire surtout dans les IDM. Au niveau du pourtour méditerranéen (Italie, Espagne), les résultats ont montré une sous expression de l'allèle apoE4. Qu'en est-il en Algérie ?

##### Les objectifs de notre étude étaient de :

- Déterminer les fréquences alléliques et génotypiques du gène de l'apoE chez des patients présentant des maladies cardiovasculaires et chez des témoins.
- Evaluer l'impact du polymorphisme de ce gène sur le risque de survenu de ces pathologies.

##### Patients et méthodes

Notre population a été recrutée au niveau de la wilaya de Constantine grâce à un sondage en grappes .Notre étude a porté sur 421 témoins, 218 IDM, 205 accidents vasculaires cérébraux (AVC) et 30 artériopathies des membres inférieurs (AOMI) .Pour tous ces sujets plusieurs génotypes de l'apoE ont été mis en évidence grâce à une PCR digestion utilisant l'enzyme HhaI.

##### Résultats

La répartition des différents allèles de l'apo E chez les malades a montré une prédominance de l'allèle E4 par rapport aux témoins surtout dans l'IDM et l'AVC ischémique. Les odds ratio Epsilon4 / Epsilon 4 vs Epsilon3 / Epsilon3 étaient de **1.96** ( $1.32 < OR < 2.91^*$ ) ( $p < 1\%$ ) dans L'IDM et de **1.6** ( $1.05 < OR < 2.70^*$ ) ( $p < 5\%$ ) dans l'AVC Ischémique.

Ces résultats suggèrent que les porteurs de l'allèle Epsilon 4 possèdent un risque plus élevé de développer ces maladies cardiovasculaires.

##### Conclusion

Nos résultats ont montré que l'allèle Epsilon 4 du gène l'apoE constitue un facteur de risque génétique de survenu des AVCI et des IDM dans la population algérienne et que la connaissance de ce polymorphisme devient un élément à prendre en considération pour la prévention de ces maladies cardiovasculaires.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

**#2324 : L'analyse par « mini-exome » d'une cohorte de patients avec anomalies du développement permet un diagnostic moléculaire dans au moins 25% des cas**

### Auteurs :

Christèle Dubourg (1), Wilfrid Carré (1), Elouan Chérot (1), Chloé Quélin (2), Mélanie Fradin (2), Christophe Philippe (3), Florence Demurger (2), Véronique David (1), Laurent Pasquier (2), Sylvie Odent (2)

1. Service de Génétique Moléculaire et Génomique, CHU Pontchaillou, Rennes, France
2. Service de Génétique Clinique, CHU Hôpital Sud, Rennes, France
3. Service de Génétique, CHU Brabois, Nancy, France

**Mots clefs :** anomalies du développement, mini-exome, Trusight One

### Résumé :

Les anomalies du développement (dysmorphie, déficience intellectuelle, malformations) représentent un large groupe de pathologies pour lesquelles la diversité génétique et clinique est très importante. Malgré leur rareté individuelle, elles constituent un problème majeur de santé publique et sont observées chez 2 à 4 % des naissances. A ce jour, plus de 4000 maladies ont été décrites. En dépit des avancées technologiques et notamment de l'utilisation de l'ACPA en routine diagnostique, les bases moléculaires restent inconnues dans plus de la moitié des cas.

Méthodes : Nous avons testé l'approche « mini-exome » en utilisant le panel « Trusight™ One » (Illumina®) qui permet l'analyse par NGS de 4800 gènes connus pour être impliqués en pathologie humaine. Vingt-quatre patients ont été sélectionnés sur la base a) de l'urgence de la demande de conseil génétique, b) de la sévérité du phénotype, c) de l'hétérogénéité génétique en cas de suspicion diagnostique. Quinze ont été étudiés en trios, 2 en quatuor (2 enfants atteints) et 7 sans les parents. Trois d'entre eux étaient issus de familles consanguines.

Résultats : A ce stade de l'analyse, une mutation clairement délétère a été identifiée et confirmée dans 25% des cas (6), tandis que des variations potentiellement pathogènes (25%) laissent entrevoir des hypothèses diagnostiques non encore validées, et 50% s'avèrent négatifs.

Discussion : Les résultats positifs ont été obtenus majoritairement avec les trios et, contrairement à ce que l'on pouvait attendre, ne sont pas obtenus dans les familles consanguines. Ces résultats positifs consistent en des variations survenues *de novo* dans des gènes associés à des phénotypes concordants chez les patients en distinguant deux situations :

1) Pour 3 patients, le diagnostic avait été évoqué à partir des données cliniques. Cependant l'analyse moléculaire de confirmation pouvait être compliquée du fait de l'hétérogénéité génétique (Coffin Siris par exemple) et/ou non réalisée en France (avec un coût élevé). Le mini-exome a permis de confirmer l'implication des gènes **ARID1B** (Coffin Siris avec aplasie utéro-vaginale), **KIF11** (syndrome microcéphalie-lymphoedème-choriorétinopathie) et **SMARCA2** (syndrome de Nicolaïdes-Baraitser).

2) Pour les autres patients, sans diagnostic cliniquement suspecté, le mini-exome a véritablement permis d'évoquer une anomalie moléculaire secondairement confirmée en Sanger. Il s'agit d'une mutation dans **FOXG1** mise en évidence chez une patiente avec un syndrome pseudo-Rett, microcéphalie, pic de lactates en IRM-spectroscopie, une mutation faux-sens du gène **STXBP1** dans un cas d'encéphalopathie sans épilepsie et une mutation décalant le cadre de lecture de **RORA** dans un cas d'autisme avec déficience intellectuelle.

Conclusion : Nos résultats démontrent l'intérêt de l'utilisation d'un panel « mini-exome » dans le diagnostic des anomalies du développement.

Remerciements : CHU de Rennes, Biogenouest® plateforme Génomique Santé

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #2326 : Caractérisation fonctionnelle d'une mutation du gène *POU1F1* associée à un déficit isolé en hormone de croissance (IGHD) : une nouvelle étiologie de l'IGHD

#### Auteurs :

Marie-Laure Sobrier (1), Yu-Cheng Tsai (2), Christelle Pérez (1), Bruno Leheup (3), Tahar Bouceba (4), Philippe Duquesnoy (1), Bruno Copin (5), Daria Sizova (6), Alfredo Penzo (7), Ben Z Stanger (8), Nancy E Cooke (6), Stephen A Liebhaber (2), Serge Amselem (1)

1. Inserm UMRS933, Hôpital Trousseau, Paris, France
2. Department of genetics, Perelman school of medicine University of Pennsylvania, Philadelphia, France
3. Service de génétique clinique pédiatrique, Hopital d'enfants, CHU Nancy, Vandoeuvre-Lès-Nancy, France
4. Plateforme d'interactions moléculaires, Institut de Biologie Paris seine, Paris, France
5. Service de Génétique et d'embryologie médicales, Hôpital Trousseau, Paris, France
6. Department of genetics, Perelman school of medicine University of Pennsylvania, Philadelphia, Etats-Unis
7. Gastroenterology division, Perelman school of medicine University of Pennsylvania, Philadelphia, France
8. Gastroenterology division, Perelman school of medicine University of Pennsylvania, Philadelphia, Etats-Unis

**Mots clefs :** déficit GH, mutation, facteur de transcription

#### Résumé :

**Contexte:** *POU1F1*, facteur de transcription pituitaire spécifique, joue un rôle essentiel dans la spécification des lignées somatotrophes, lactotrophes et thyrotrophes et dans l'activation de la transcription des gènes *GHN*, *PRL* et *TSHbet* de son propre gène. Toutes les mutations *POU1F1* rapportées sont liées à un déficit combiné (CPHD) en GH, *PRL* et TSH. Chez l'homme, la transcription du gène *GHN* est sous le contrôle d'une région activatrice (LCR, Locus Control Region), HSI, située 14.5 kb en amont du promoteur h*GHN*. L'association de *POU1F1* avec trois sites dans HSI présente une spécificité de liaison et de fonction qui est distincte de celle des sites du promoteur. La liaison de *POU1F1* à HSI active un domaine de transcription non codante, induit la formation d'une boucle qui rapproche HSI du promoteur et déclenche la transcription du gène *GHN*.

**Objectifs:** Explorer les bases moléculaires d'un phénotype de déficit isolé en GH (IGHD) ségrégeant sur un mode dominant dans une grande famille sur trois générations.

**Méthodes:** Séquençage des gènes candidats. Etudes fonctionnelles pour décrypter les mécanismes moléculaires engendrés par la mutation identifiée: co-immunoprecipitation (CoIP), interaction ADN-protéine par EMSA et études cinétiques par résonance plasmonique de surface (SPR). Génération d'un modèle souris de la mutation.

**Résultats:** Une mutation faux-sens hétérozygote de *POU1F1*, p.Pro76Leu, a été identifiée chez les 9 patients de la famille. Cet acide aminé très conservé se situe dans le domaine de transactivation (TAD) de *POU1F1*. Une très petite quantité de protéine mutée est produite par rapport à la protéine normale ce qui suggère une modification de la conformation provoquée par la mutation. Par CoIP, nous montrons que la mutation augmente la quantité de complexes formés avec différents cofacteurs (LHX3, PITX1, ELK1), la proline 76 jouant un rôle majeur dans ces interactions. Les expériences de SPR révèlent une augmentation de l'affinité de la protéine *POU1F1*-P76L pour les sites HSI du LCR. Les études de retard sur gel sur les sites du LCR et du promoteur *GHN* avec un mélange des protéines normales et mutées montrent un aspect différent de celui obtenu avec la protéine normale seule, alors que ces liaisons ont le même aspect sur le promoteur *PRL*. La mutation a été introduite au locus *Pou1f1* murin : chez les souris hétérozygotes, alors que le niveau d'ARNm est équivalent à celui du sauvage, la protéine mutée est très faiblement exprimée et ne réprime pas l'expression du gène *Gh*, les souris ne présentent pas de retard de croissance au contraire des souris homozygotes.

**Conclusion:** Nous rapportons la première mutation de *POU1F1* associée à un IGHD. Les résultats obtenus révèlent un mécanisme nouveau à l'origine d'une forme dominante d'IGHD chez l'homme et démontrent la difficulté de modéliser chez la souris les maladies génétiques humaines malgré une conservation apparente du profil d'expression des gènes et de leur fonction

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #2349 : Cholestase intra-hépatique familiale progressive de type 1: étude génétique d'une famille Tunisienne

#### Auteurs :

yasmina elaribi (1), houweyda jilani (1), imen rejeb (1), Véronique Barbu (2), Nadia Siala (3), ahmed maherzi (4), lamia ben jema (5)

1. service des maladies congénitales et héréditaires, hopital mongi Slim, tunis, Tunisie
2. laboratoire commun de biologie et de génétique moléculaires, Hopital Saint-Antoine, paris, France
3. service de pédiatrie , hopital mongi Slim, tunis, Tunisie
4. service de pédiatrie, hopital mongi Slim, tunis, Tunisie
5. service des maladies congénitales et héréditaires, hopital mongi Slim , tunis, France

**Mots clefs :** cholestase, ATP8B1, conseil génétique, mutation

#### Résumé :

Les cholestases intra-hépatiques familiales progressives(CIFP) représentent un groupe hétérogène de maladies rares dont la cause est un défaut de sécrétion biliaire. Toutes sont des affections héréditaires à transmission autosomique récessive. On distingue trois types : CIFP de type 1 ou maladie de Byler, CIFP de type 2 et CIFP de type 3. Elles se caractérisent par une cholestase chronique aboutissant à une cirrhose et insuffisance hépatocellulaire. La transplantation hépatique demeure le seul traitement curatif.

Nous rapportons l'observation de deux frères issus d'un mariage entre apparentés de premier degré, hospitalisés en période néonatale pour ictère cutanéomuqueux. Biologiquement, ils avaient des taux élevés des aminotransférases et de bilirubine à prédominance conjuguée et une activité sérique de la gamma glutamyl transférase augmentée. L'échographie hépatique était normale chez les deux patients. La biopsie hépatique a montré une hépatite cholestatique cirrhogène. Le séquençage de nouvelle génération des trois gènes *ATP8B1*, *ABCB11* et *ABCB4* a été réalisé chez les deux frères. Il a mis en évidence deux variations délétères chez un patient et une variation à l'état hétérozygote chez l'autre dans le gène *ATP8B1*. Une étude moléculaire du gène *ATP8B1* chez des témoins sains est en cours.

Les cholestases intrahépatiques familiales progressives sont des maladies graves du foie. Le diagnostic positif est basé sur la clinique, l'échographie hépatique et sur l'histologie hépatique. Seule la confirmation par l'étude moléculaire permet de donner un conseil génétique correct et de proposer un diagnostic prénatal chez les familles à risque.

### #2351 : Le diagnostic génétique du syndrome de Shwachman-Diamond : à propos de trois observations

#### Auteurs :

yasmina elaribi (1), houweyda jilani (1), imen rejeb (1), Christine Bellanné-Chantelot (2), Nadia Siala (3), ahmed maherzi (4), lamia ben jema (5)

1. service des maladies congénitales et héréditaires, hopital mongi Slim, tunis, Tunisie
2. département de génétique, centre de génétique moléculaire et chromosomique, paris, France
3. service de pédiatrie , hopital mongi Slim, tunis, Tunisie
4. service de pédiatrie, hopital mongi Slim, tunis, Tunisie
5. service des maladies congénitales et héréditaires, hopital mongi Slim , tunis, Tunisie

**Mots clefs :** diarrhée, SBDS, conseil génétique, mutation

#### Résumé :

Le syndrome de Shwachman-Diamond (SDS) est une maladie héréditaire rare, transmise selon un mode autosomique récessif. Cliniquement, elle se manifeste par une dysfonction pancréatique exocrine, des malformations congénitales telles que les anomalies squelettiques et une neutropénie.

Le gène déterminant *SBDS* est localisé sur le bras long du chromosome 7 en 7q11.21. Une vingtaine de mutations a été rapportée. Plus de 90% des patients atteints de SDS ont des mutations au niveau de ce gène. Nous rapportons dans cette étude les données cliniques et génétiques collectées auprès de trois patients présentant un SDS.

Trois patients âgés actuellement de 15 mois, 19 mois et de 7 ans ont été inclus. L'âge au moment du diagnostic était entre 7 et 18 mois La présentation clinique était variable : le retard staturo-pondéral et le retard des acquisitions motrices étaient présents dans les trois cas ; Deux patients avaient une neutropénie et une diarrhée chronique. Le diagnostic a été retenu devant les taux bas de l'élastase fécale et il a été confirmé par l'étude moléculaire. Le scanner abdominal, fait chez deux malades, a révélé une lipomatose pancréatique.

Sur le plan génétique, deux patients (frère et sœur) étaient hétérozygotes composites pour les mutations déjà rapportées p.[Lys62x ; Cys84fs]. L'analyse moléculaire est en cours pour le troisième patient.

Le syndrome de Shwachman-Diamond est une maladie à pronostic réservé puisqu'elle prédispose au développement de cancers en particulier la leucémie myéloïde aigue. L'étude moléculaire permet une confirmation diagnostique mais un test négatif n'exclue pas le diagnostic. Un diagnostic précoce du SDS est nécessaire afin d'instaurer une meilleure prise en charge et de prévenir les complications hématologiques létales.

**#2356 : Syndromic diarrhea/tricho-hepato-enteric syndrome, assessment of 5 years of molecular diagnostic**

**Auteurs :**

Patrice Bourgeois (1), Charlène Chaix (1), Nicolas Lévy (1), Cécile Delafoulhouze (2), Alexandre Fabre (2), Catherine Badens (1)

1. Département de Génétique Médicale et de Biologie Cellulaire, Assistance Publique - Hôpitaux de Marseille, Marseille, France

2. Service de Pédiatrie Multidisciplinaire, Assistance Publique - Hôpitaux de Marseille, Marseille, France

**Mots clefs :** Tricho-hepato-enteric syndrome, molecular diagnostic, mutations, exome sequencing

**Résumé :**

Syndromic diarrhea/tricho-hepato-enteric syndrome (SD/THE) is a rare autosomal recessive syndromic enteropathy caused by mutations of either *TTC37* or *SKIV2L* genes. The products of these genes are two components of the human SKI complex, a multi-protein assembly involved in RNA life span regulation. The main features of this syndrome are intractable diarrhea of infancy, IUGR, hair abnormalities often with trichorrhexis nodosa, immune defects, liver disease and skin abnormalities. The pathology of the intestinal tract is variable, ranging from normal to villous atrophy but with non-specific alterations, although 2/3 of the patients have some level of colitis. After the first mutations identification, we set up a molecular diagnostic for both genes by direct Sanger sequencing on a routine basis and received DNA samples from all over the world. To date, we have analyzed a cohort of 65 samples. Among them, we were able to confirm a THE syndrome for 45 patients (69%). 31 were mutated in *TTC37* (48%, 2/3 of the diagnosed patients) and 14 in *SKIV2L* (22%, 1/3 of the diagnosed patients). Interestingly, about 55% of the patients are homozygous for one mutation, the remaining third being compound heterozygous. However, for 4 patients (about 6-9%), we only identified one mutation, although large deletions, insertions or translocations have been excluded. We hypothesize that, in these cases, deep intronic mutations altering normal splicing may probably be involved.

The type of mutation is different depending on the gene. Indeed, 38% of the mutations identified in *TTC37* gene, but only 15% in *SKIV2L* are non-sense mutations, whereas deletions are found in 56% of *SKIV2L* mutations, but only in 19% of *TTC37* ones. This fits well with the function of the proteins, since *SKIV2L* has a known enzymatic function (a helicase), whereas *TTC37* is rather a chaperone protein, both interacting in the SKI complex. Virtually all types of mutations have been found, including a large panel of splice site mutations, some leading to exon skipping, as proven on transcripts.

To date, no prenatal diagnostic request has arisen, but some families may present requests in a near future.

Altogether, this routine diagnostic procedure allowed us to characterize 19 patients for whom no mutation has been found in either *TTC37* or *SKIV2L* despite a typical phenotype of THE syndrome (one last sample was of too bad quality to be analysed). The exome sequencing of these 19 patients which is currently under progress, will certainly lead to the identification of at least a third gene causative for THE syndrome.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #2357 : Hétérogénéité phénotypique intrafamiliale du syndrome de Joubert : A propos d'une famille Tunisienne

#### Auteurs :

imen rejeb (1), houweyda jilani (1), yasmina elaribi (1), Syrine Hizem (2), Soumaya Bourgou (3), ahlem belhadj (4), lamia ben jema (2)

1. service des maladies congénitales et héréditaires, hopital mongi Slim, tunis, Tunisie
2. service des maladies congénitales et héréditaires, hopital mongi Slim , tunis, Tunisie
3. service de pédopsychiatrie , hopital mongi Slim, tunis, Tunisie
4. service de pédopsychiatrie , hopital mongi Slim , tunis, Tunisie

**Mots clefs :** malformation cérébrale, retard mental, hypotonie néonatale, hétérogénéité génétique

#### Résumé :

Le syndrome de Joubert est une affection rare, d'origine génétique, autosomique récessive caractérisée par une hétérogénéité clinique et génétique inter et intrafamiliale. Les principaux signes cliniques sont l'hypotonie néonatale, le retard psychomoteur, l'ataxie et les troubles oculomoteurs (apraxie oculomotrice), la tachypnée néonatale et la déficience intellectuelle. A ce jour douze gènes ont été identifiés, ils codent pour des protéines ciliaires participant à la migration axonale et à la prolifération du cervelet. La prévalence du syndrome de Joubert est estimée à 1 enfant pour 100 000.

Nous rapportons, le cas de deux enfants frère et sœur âgés respectivement de 5ans et demi et de 3 ans issus d'un mariage consanguin au 1<sup>er</sup> degré. Le tableau clinique a montré un retard psychomoteur sévère, une atteinte ophtalmologique type nystagmus. L'imagerie par résonance magnétique a révélé chez les 2 enfants une agénésie vermienne donnant l'aspect en dent molaire très évocateur d'un syndrome de Joubert. Par ailleurs des troubles du comportement (cris stridents spontanés et auto-agressivité) et des troubles du sommeil (inversion du rythme nyctéméral) ont été retrouvés chez la sœur et non chez son frère ce qui évoque une hétérogénéité clinique au sein de la même famille.

Le syndrome de Joubert est une affection à pronostic réservé puisqu'il met en jeu le pronostic fonctionnel du système nerveux central ainsi que du système respiratoire. Malgré l'hétérogénéité génétique, un diagnostic prénatal radiologique est possible pour les familles à haut risque.

**Auteurs :**

Fatima Ammar khodja (1), Crystel Bonnet (2), Malika Dahmani (1), Hassina Ibrahim (3), Christine Petit (4)

1. Laboratoire de génétique, , Faculté des Sciences Biologiques, USTHB, Alger, Alger, Algérie
2. Institut de la Vision, UMRS 1120 INSERM/UPMC/, Institut Pasteur, Paris, France, Paris, France
3. Service ORL, CHU Mustapha Bacha Alger, Alger, Algérie
4. Unité de Génétique et Physiologie de l'Audition, UMRS 1120 INSERM/UPMC, Institut Pasteur, Paris, France, Paris, France

**Mots clefs :** Diversité, génétique, surdités, Algérie, génotype, phénotype

**Résumé :**

**Contexte :** Les surdités non syndromiques et syndromiques sont des maladies monogéniques avec une très grande hétérogénéité génétique. Toutefois dans le pourtour méditerranéen, les mutations du gène *GJB2* codant la connexine 26 sont impliquées dans la majorité des surdités non syndromiques de degré variable.

**Objectif :** Cette étude permet, après analyse moléculaire des différents gènes de confirmer ou d'infirmer leur implication dans la pathologie auditive et d'établir la relation génotype-phénotype.

**Matériels et méthodes :** Le sang périphérique est prélevé chez 120 familles dont au moins deux membres sont atteints. La méthode PCR-Mediated Site Directed Mutagenesis (PSDM), la technique PCR-RFLP, le séquençage et le whole exome sequencing ont permis d'identifier différentes mutations des gènes impliqués dans les surdités

**Résultats :** L'étude moléculaire montrant que 40% des familles sont homoalléliques ou bi-alléliques du gène *GJB2* (locus DFNB1) présentent une surdité non syndromique bilatérale stable variant de modérée à profonde. Le degré élevé de surdité est associé aux mutations bi-alléliques tronquantes, plus particulièrement aux génotypes homozygotes c.35delG/35delG, c.139G > T/139G > T: E47\*, ou hétérozygotes composites c.35delG/139G > T.

L'homozygotie, c.100C > T/c.100C > T : p.(Arg34X) du gène *TMC1*, c.699C > T /c.699C > T : p.(Arg237\*) et c.2122C > T/c.2122C > T : p.(Arg708\*) du gène *OTOF*, c.1334T > G / c.1334T > G : p.(Leu445Trp) du gène *SLC26A4*, c.764T > A/ c.764T > A: p.(Met255Lys) du gène *GIPC3*, c.518 T > A/ c.518 T > A: p.(Cys173Ser) du gène *LHFPL5*, c.1837G > T/c.1837G > T : p.(Val603Phe) du gène *OTOA*, c.5336T > C/c.5336T > C : p.(Leu1779Pro) du gène *MYO15A*, c.1837G > T/c.1837G > T p.(Val603Phe) du gène *OTOA*, c.5592dup/c.5592dup p.(Glu134Glyfs\*6) du gène *PTPRQ* sont retrouvées chez les patients atteints de surdités profondes. Les mutations des gènes *OTOF* et *SLC26A4* sont responsables respectivement d'atteinte neuropathie auditive et d'élargissement de l'aqueduc vestibulaire. Les génotypes c.6017del/c.7188\_7189ins14 : p.(Gly2006Alafs\*13)/ p.(Val2397Leufs\*2) du gène *GPR98*, c.3316 C > T/ c.3316 C > T : p. Arg1105\* du gène *PCDH15* etc.4166delC / c.4166delC : p.Ala 1389X du gène *MOY7A* sont impliquées dans des surdités sévères à profondes avec atteintes rétinienne. La surdité progressive est retrouvée chez une seule famille présentant la mutation homozygote 1-bp deletion c.1014delC : p.Ser339Alafs\*15 du gène *EPS8L2*.

**En conclusion :** Les mutations de l'exon 2 du gène *GJB2* et plus particulièrement la mutation c.35delG sont les plus fréquentes dans la détermination de la surdité profonde en Algérie.

**Mots clés :** Diversité, génétique, surdités, Algérie. Génotype, phénotype

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #2374 : Délétion intragénique du gène *HIRA* (*TUPLE1*) chez une patiente présentant un phénotype évocateur de microdélétion 22q11

#### Auteurs :

Médéric Jeanne (1), Sandrine Vonwill (1), Damien Haye (1), Nora Chelloug (1), Annick Toutain (1)

1. Service de Génétique, CHU de Tours, Tours, France

**Mots clefs :** Délétion intragénique, gène *HIRA*, microdélétion 22q11

#### Résumé :

Le syndrome de microdélétion 22q11.2 correspond à un spectre phénotypique large. Des gènes localisés dans la région communément délétée de 3 Mb ou DGCR1 (DiGeorge syndrome critical region) ont été proposés comme candidats pour expliquer certains signes cliniques, tels que *TBX1* pour les malformations cardiaques, mais actuellement aucun d'entre eux ne rend compte de l'ensemble du phénotype. Notamment l'origine des difficultés neurodéveloppementales reste débattue. Nous rapportons une délétion intragénique du *HIRA* (*Tuple1*), qui est localisé dans la région DGCR1, survenue de novo chez une fillette de 5 ans dont les signes cliniques rappellent ceux du syndrome de microdélétion 22q11.2. Cette patiente a un retard psychomoteur sévère, un retard de croissance, une insuffisance vélopharyngée et des signes dysmorphiques similaires à ceux observés dans la microdélétion 22q11.2. L'analyse en FISH avec la sonde commerciale *Tuple1* (Cytocell®) n'a pas retrouvé de délétion. L'étude en CGH-array a mis en évidence une délétion de novo de 28 kb au sein du gène *HIRA*. L'analyse en RT-PCR et séquençage a montré l'existence d'une délétion des exons 2 à 13 du transcrit du gène *HIRA*. Aucun transcrit normal n'a été observé suggérant l'absence de transcription de l'allèle non délété de *HIRA*. Des analyses complémentaires sont en cours pour évaluer cette hypothèse. A notre connaissance, il s'agit ici du premier cas de délétion intragénique du gène *HIRA*. La similitude des signes cliniques entre le phénotype de la patiente présentée ici et celui de la microdélétion 22q11 classique suggère fortement que ce gène pourrait être un candidat pour le phénotype neurodéveloppemental et les signes dysmorphiques du syndrome de microdélétion 22q11.2.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

**#2375 : Phenotypic variability among 3 Rett patients sharing the same novel mutation p.A59P in N-terminal domain of Methyl-CpG-Binding Protein 2: Clinical evaluations and in silico investigations**

### Auteurs :

marwa kharrat (1), Ines Hsairi (1), Nourhene Fendri-Kriaa (1), Houda Kenoun (1), Houda Ben Othmen (1), chahnez triki (1), faiza fakhfakh (1)

1. , , sfax, Tunisie

**Mots clefs :** Rett syndrome, MECP2 gene, N-terminal region, p.A59P, Clinical severity scores, Homology modeling

### Résumé :

Rett syndrome is a monogenic X-linked dominant neurodevelopmental disorder related to mutation in *MECP2*. The aim of this study was to search for mutations of *MECP2* gene in Tunisian Rett patients and to evaluate the impact of the found variants on structural and functional features of MeCP2. The result of mutation analysis revealed that a 3 Rett patients share a same novel heterozygous point mutation c.175G > C (p.A59P). The p.A59P mutation was located in a conserved amino acid in N-terminal segment of MeCP2. This novel mutation confers a phenotypic variability with different clinical severity scores (CSS=3,8,9) and predicted by SIFT and PolyPhen to be damaging. Modeling results showed that p.A59P adds 2hydrogen bonds and changes the structural conformation of MeCP2 with a significant root mean square deviation value (RMSD=9.66 Angstrom), suggesting that this mutation could probably affect the conformation, function and stability of MeCP2.

### #2376 : Sirénomélie : le séquençage d'exome suggère des bases génétiques hétérogènes

#### Auteurs :

Anne-Claire Bréhin (1), Céline Ballandone (1), Nadia Coudray (1), Gaël Nicolas (2), Sophie Coutant (2), Nicolas Gruchy (1), Pascale Saugier-Weber (2), Thierry Frebourg (2), Marie-Laure Kottler (1), Marion Gérard (3)

1. Service de génétique, CHRU de Caen, Caen, France
2. Inserm U1079, Centre Normand de Génomique Médicale et Médecine Personnalisée et Service de Génétique, Université de Rouen, IRIB et CHU de Rouen, Rouen, France
3. Service de génétique, CHRU de Caen, Caen, France

**Mots clefs :** Sirénomélie, Séquençage d'exome, malformation embryonnaire, pôle caudal

#### Résumé :

La sirénomélie est une anomalie de la formation du pôle caudal embryonnaire à l'origine d'une imperforation anale, d'une agénésie vésicale et rénale ainsi que d'une non-séparation des membres inférieurs. Ce syndrome létal extrêmement rare survient lors d'une grossesse sur 100 000 et est habituellement non récurrent. Le diagnostic est porté le plus souvent lors de la première échographie et conduit généralement à une interruption de la grossesse.

Grâce à une collaboration nationale et européenne, nous avons pu collecter plus d'une dizaine d'ADNs de foetus atteints de sirénomélie, en particulier 3 cas familiaux issus de 2 familles différentes dont les mères avaient toutes deux présenté une imperforation anale. Le séquençage des exomes en trio de 7 cas sporadiques et des 3 cas familiaux, nous a permis d'identifier des gènes candidats pour cette malformation embryonnaire chez 4 des 7 cas sporadiques.

Nous avons identifié entre 1 et 4 variations exoniques *de novo* par cas index sporadique. Aucune de ces variations n'impliquaient le même gène ou la même voie de signalisation suggérant l'existence d'une hétérogénéité des bases génétiques de la sirénomélie. Ces gènes candidats sont impliqués dans différentes voies biologiques telles que l'assemblage du cil primaire, la morphogenèse osseuse, le remodelage chromatinien et la gastrulation. De façon intéressante, un des cas sporadiques comportait 2 variations au sein de 2 gènes possiblement impliqués dans le développement embryonnaire à travers 2 voies de signalisation distinctes. Une de ces variations est une substitution d'une Asparagine en Sérine en position 1795 au sein de l'exon 18 du gène *KAT6B*. Ce gène *KAT6B* a précédemment été décrit comme associé à la survenue du syndrome génito-patellaire, caractérisé par des anomalies cranio-faciales, des contractures congénitales en flexion des membres inférieurs, une anomalie ou absence de rotule, des anomalies urogénitales ainsi qu'un retard psychomoteur sévère. Ainsi, la sirénomélie pourrait constituer la manifestation extrême d'un spectre phénotypique qui incluerait le syndrome génito-patellaire. La seconde variation identifiée impliquait le gène *DISP1*, interacteur de la voie Sonic-Hedgehog, déjà connue comme voie de signalisation du développement céphalique embryonnaire.

En conclusion, les résultats préliminaires de notre étude par séquençage d'exome de 10 cas de sirénomélie suggèrent fortement une hétérogénéité des bases génétiques de la sirénomélie avec une très probable composante multigénique.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

**#2377 : L'association déficience intellectuelle, paraplégie spastique et glaucome est due à une mutation faux-sens homozygote du gène GRID1 qui code une sous-unité des récepteurs au glutamate**

### Auteurs :

Annick Toutain (1), Yann Humeau (2), Marie-Amélie Papon (3), Devina Ung (3), Marie-Pierre Moizard (1), Nicolas Lebrun (4), Jamel Chelly (4), Giovanni Stevanin (5), Frédéric Laumonier (3)

1. Service de Génétique, CHU de Tours, Tours, France
2. Team Synapse in Cognition, Institut Interdisciplinaire de NeuroScience, CNRS UMR5297, Université de Bordeaux, Bordeaux, France
3. UMR\_INSERTM U930, Faculté de Médecine, Université François Rabelais, Tours, France
4. INSERM U1016, Institut Cochin, Paris, France
5. Laboratoire EPHE de Neurogénétique, Institut du Cerveau et de la Moelle Epinière, Paris, France

**Mots clefs :** Déficience intellectuelle, paraplégie spastique, glaucome, séquençage d'exome, GRID1, récepteurs au glutamate

### Résumé :

L'association déficience intellectuelle (DI) et paraplégie spastique (PS) est fréquente (> 80 entrées dans OMIM) mais l'association DI, PS et glaucome n'a été rapportée que 2 fois dans la littérature : chez 4 patients des 2 sexes de 2 fratries d'une grande famille suédoise, et chez 3 frères nés de parents canadiens. Nous avons pu examiner 3 frères, nés de parents algériens, avec la même association. Les 3 patients avaient une DI légère/modérée associée à une PS précoce, non ou lentement progressive, et un glaucome juvénile responsable d'une malvoyance sévère. IRM cérébrale, examens métaboliques et caryotype étaient normaux. Un syndrome de gènes contigus a été exclu par CGH-array (Agilent CGH 1M) qui n'a pas détecté de CNV. L'existence d'une consanguinité dans les 3 familles et de femmes atteintes dans l'une d'elles est en faveur d'une hérédité autosomique récessive (OMIM 270850).

Par cartographie par homozygotie nous avons défini une région de localisation de 30,6 Mb contenant environ 250 gènes et MiRNAs, en 10q23.1-q25.2 (Zmax à 2,53). Aucun gène responsable de DI et/ou PS et/ou glaucome n'était connu dans cette région. Par séquençage d'exome nous avons trouvé une mutation faux-sens homozygote dans le gène *GRID1*, qui est situé dans cet intervalle. Cette mutation touche un acide aminé conservé, est située dans un domaine extracellulaire important pour la fonction de la protéine, et ségrège avec la maladie. En revanche aucune mutation de *GRID1* n'a pu être identifiée dans des séries de patients atteints de DI ni dans une cohorte de patients atteints de PS, isolée ou associée à une DI. Cette mutation n'a pas été retrouvée dans ExAC ni dans d'autres bases de données.

Pour valider sa pathogénicité, nous avons effectué des études fonctionnelles sur des cultures primaires de neurones hippocampiques matures de souris, transfectés soit avec la séquence normale soit avec la séquence mutée de *GRID1*. Des études électrophysiologiques ont montré que les neurones surexprimant la protéine *GRID1* normale présentent une augmentation de fréquence des courants spontanés post-synaptiques excitatoires par rapport aux neurones non transfectés, alors que les neurones exprimant la protéine mutée présentent une diminution de fréquence de ces courants. Ces résultats suggèrent que la mutation aboutit à une perte de fonction de la protéine. Un examen en microscopie confocale a montré des anomalies morphologiques des dendrites avec une diminution du nombre d'épines dendritiques sur les neurones exprimant la protéine mutée.

Ainsi, nous rapportons la 1<sup>ère</sup> mutation pathogène du gène *GRID1* qui est exprimé quasiment exclusivement dans le cerveau et code la sous-unité 1 des récepteurs au glutamate. Ces canaux assurent l'essentiel de la transmission synaptique rapide excitatoire dans le système nerveux central et jouent un rôle clé dans la plasticité synaptique. Ceci renforce l'hypothèse que *GRID1* est le gène responsable de cette entité rare qu'est l'association DI, PS, glaucome.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #2387 : Etude des mutations faux-sens de *CHD7* présentes chez certains patients atteints du syndrome de Kallmann.

#### Auteurs :

Catherine DODE (1), Corinne FOUVEAUT (1)

1. service de biochimie et génétique moléculaire, Hôpital Cochin, Paris, France

**Mots clefs :** splicing, *CHD7*, Kallmann

#### Résumé :

Le syndrome de Kallmann est une maladie génétique du développement, qui associe une anosmie et un hypogonadisme hypogonadotrope. Ce dernier est dû à une anomalie de la migration des neurones produisant la GnRH le long des nerfs olfactifs pendant l'embryogénèse. Ce syndrome est génétiquement hétérogène, et des mutations 'perte de fonction' dans l'un des gènes suivants ont été rapportées chez environ 30% des malades : *KAL1*, *FGFR1*, *FGF8*, *PROKR2*, *PROK2*, *SEMA3A*, *WDR11*, *HS6ST1*, *FEZF1*, *SOX10*, ou encore *CHD7*, un gène précédemment impliqué dans le syndrome CHARGE, une autre maladie du développement qui atteint le plus souvent de nombreux organes.

Une néomutation de *CHD7*, à effet 'tronquant' dans la grande majorité des cas, explique la plupart des cas de syndrome CHARGE. Cependant, de nombreux patients ne possèdent pas toutes les anomalies phénotypiques qui constituent ce syndrome dans sa forme la plus complète, et des mutations de *CHD7* ont en particulier été rapportées chez certains patients suivis pour un syndrome de Kallmann par un endocrinologue. Nous avons recherché des mutations de *CHD7* chez 209 patients de ce type, par séquençage NGS des exons codants. Chez 24 patients, différentes mutations ont été identifiées dont, à la différence des patients atteints d'un syndrome CHARGE 'typique', une majorité (16) de mutations faux-sens (probablement pathogènes d'après les algorithmes de prédiction). Ces patients avaient le plus souvent une ou plusieurs autres anomalies cliniques participant au syndrome CHARGE. Une surdité ou une fente labiale/palatine était présente chez 15 d'entre eux, et l'étude a révélé que la coexistence de ces deux anomalies, présente chez 6 patients, a une bonne valeur prédictive de la présence d'une mutation dans *CHD7*. Par ailleurs, des anomalies variées de l'appareil urinaire étaient présentes chez 6 patients. Enfin, les mutations faux-sens étaient souvent transmises par l'un des deux parents présentant un seul trait phénotypique du syndrome CHARGE (hérédité autosomique dominante), voire cliniquement non atteint en apparence.

Actuellement, aucun test fonctionnel simple ne permet d'affirmer ou de confirmer la pathogénicité des mutations faux-sens de *CHD7*, ce qui complique le conseil génétique en cas de demande d'induction hormonale de la fertilité, chez ces patients qui ont un déficit en GnRH. Nous avons entrepris de rechercher d'éventuelles anomalies d'épissage dues à certaines mutations, dans le but de confirmer leur pathogénicité. Nous avons purifié les ARNm à partir de lignées lymphoblastoïdes ou de fibroblastes d'une vingtaine de patients porteurs de mutations faux-sens, et avons trouvé des anomalies d'épissage dans un tiers des cas, dont des *skipping* d'exon, la création de site exonique d'épissage entraînant une délétion. Certains des patients concernés par ces anomalies ont un syndrome de Kallmann en apparence isolé.

#### Auteurs :

Gaetan Lesca (1), Jessica Michel (1), Eleni Panagiotakaki (2), Fanny Mochel (3), Rodolphe Dard (3), Cyril Mignot (3), Diane Doummar (4), Emmanuel Roze (5), Anne Roubergue (6), Christophe Verny (7), Nathalie Villeneuve (8), Marion Gérard (9), Alice Goldenberg (10), Arnold Munnich (11), Renaud Touraine (12), Sophie Nicole (13), Alexis Arzimanoglou (14), Damien Sanlaville (1)

1. Service de Génétique, Groupement Hospitalier Est, Hôpitaux de Lyon, Bron, France
2. Service épilepsie, sommeil, explorations fonctionnelles neurologiques, Groupement hospitalier Est, Hôpitaux de Lyon, Bron, France
3. Département de Génétique, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, APHP, Paris, France
4. Service de neuropédiatrie et centre de référence mouvements anormaux de l'enfant à l'adulte, Hopital Trousseau, APHP, Paris, France
5. Département des maladies du système nerveux, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, APHP, Paris, France
6. Service de neurologie, Hôpital Saint-Antoine, APHP, Paris, France
7. Département de Neurologie et centre de référence des maladies neurogénétiques, CHU d'Angers, Angers, France
8. Service de Neuropédiatrie, Hôpital de la Timone, Marseille, France
9. Service de Génétique, CHU de Caen, Caen, France
10. Service de Génétique Médicale, CHU de Rouen, Rouen, France
11. Institut Imagine, Hôpital Necker, APHP, Paris, France
12. Service de Génétique, CHU de Saint-Etienne, Saint-Etienne, France
13. INSERM U1127, CNRS UMR 7225, Sorbonne Universités, UPMC Univ Paris 06 UMR S 1127, Institut du Cerveau et de la Moelle épinière - ICM, Paris, France
14. Service épilepsie, sommeil, explorations fonctionnelles neurologiques, Groupement Hospitalier Est, Hôpitaux de Lyon, Bron, France

**Mots clefs :** *ATP1A3*, hémiplégié alternante, rapid-onset dystonia parkinsonism, CAPOS, RECA

#### Résumé :

L'hémiplégie alternante (HA) est une maladie neurologique rare (1/100.000), décrite pour la première fois en 1971 par Verret and Steele comme une complication migraineuse puis mieux identifiée par Krägeloh et Aicardi en 1980. Elle débute avant l'âge de 18 mois par des épisodes paroxystiques hémi/quadruplégiques ou dystoniques, associés à des accès de troubles oculomoteurs. Les patients présentent un déficit cognitif et des troubles neurologiques permanents et souvent une épilepsie. L'origine génétique de l'HA a été confirmée en 2012 par la mise en évidence de mutations faux-sens du gène *ATP1A3*, codant pour une Na,K-ATPases, exprimée majoritairement dans le cerveau. Ce gène était déjà impliqué dans une pathologie neurologique appelée RDP (rapid-onset dystonia parkinsonism), caractérisée par un syndrome parkinsonien et dystonique d'installation rapide chez l'adolescent/ adulte jeune avec un gradient topologique rostro-caudal, souvent favorisé par un épisode fébrile ou un stress. Des formes intermédiaires débutant après 2 ans sont rapportées. Récemment, une mutation récurrente du gène *ATP1A3* a été rapportée comme responsable du syndrome CAPOS (cerebellar ataxia, areflexia, pes cavus, optic atrophy, and sensorineural hearing loss) débutant dans l'enfance par des accès ataxiques favorisés par un contexte infectieux fébrile. Enfin, des mutations du gène *ATP1A3* ont été récemment rapportées chez des patients présentant une encéphalopathie épileptique à début infantile.

Depuis 2013 nous avons séquencé *ATP1A3* chez 123 patients présentant un tableau de HA, de dystonie ou de CAPOS. Nous avons retrouvé une mutation pathogène dans 40% (n=50) des cas, totalisant 23 mutations différentes. Chez les patients présentant une forme typique d'HA, le taux de mutation était de 80% : incluant les 3 hot-spots D801N (n= 12), G947R (n=5) et E815K (n=7). Ces trois mutations sont associées à une expression clinique de sévérité croissante. La mutation D923N était présente chez deux patients présentant un phénotype intermédiaire entre RDP et HA. Aucune mutation n'était présente chez les patients porteurs de dystonie isolée. La mutation récurrente E818K a été retrouvée dans les deux familles présentant un CAPOS. La mutation R756H a été retrouvée chez 1 patient héritée de son père, présentant tous les deux un RDP. Une autre substitution impliquant le même codon (R756C) a été retrouvée chez deux patientes non apparentées présentant un nouveau phénotype caractérisé par des accès d'ataxie cérébelleuse et des troubles de conscience provoqués par la fièvre, que nous avons appelé RECA (relapsing encephalopathy with cerebellar ataxia). Chez 24 patients sans mutation de la séquence codante, nous n'avons pas mis en évidence de grands réarrangements par MLPA. Ce résultat,

ainsi que le fait que la quasi-totalité des mutations soient des faux-sens est en faveur d'un effet de gain de fonction des mutations, comme l'ont montré les études *in vitro* ou les modèles de knock-in murins.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

**#2398 : Influence du fonds génétique sur la surcharge en fer liée à l'hémolyse chronique dans un modèle murin de maladie de Günther (Porphyrie Erythropoïétique Congénitale)**

### Auteurs :

Cécile GED (1), Hubert de Verneuil (2), Emmanuel Richard (1), Jean-Marc Blouin (1), Pierre Costet (3), Sarah Millot (4), Thibaud Lefebvre (5), Hervé Puy (6), Zoubida Karim (4)

1. Laboratoire du Pr H de Verneuil, INSERM U1035-Université de Bordeaux, Bordeaux, France
2. Laboratoire de Biochimie, INSERM U1035-Université de Bordeaux, Bordeaux, France
3. Animalerie Spécialisée, Université de Bordeaux, Bordeaux, France
4. INSERM U1149, Université Paris-Diderot, Paris, France
5. Université Paris-Diderot, Université Paris-Diderot, Paris, France
6. INSERM U1149, Université de Bordeaux, Paris, France

**Mots clefs :** modèle murin, porphyrie érythropoïétique congénitale, expression phénotypique, métabolisme du fer

### Résumé :

La porphyrie érythropoïétique congénitale (PEC) est une maladie génétique rare due à un défaut de la 4<sup>ème</sup> étape de la biosynthèse de l'hème, catalysée par l'uroporphyrinogène III synthase (UROS). Un modèle Knock-In de PEC, reproduisant une mutation faux-sens du gène UROS identifiée chez l'homme, a été développé sur 3 souches congéniques (BALB/c, C57BL/6, SV/129) afin d'étudier l'effet du fonds génétique sur l'expression de la maladie. Les travaux précédents sur ce modèle KI dans le fonds BALB/c décrivent un phénotype modéré, sans réduction de la durée de vie, une anémie hémolytique chronique avec hépatosplénomégalie et une accumulation massive de porphyrines dans le plasma, les urines, et les tissus érythropoïétiques.

Afin de mettre en évidence d'éventuels gènes modificateurs du phénotype, par une étude de QTL à la suite de croisements entre souches congéniques porteuses de la mutation du gène uros, divers paramètres hématologiques et urinaires (numération sanguine, fluorocytos, porphyrines) ont été quantifiés sur chaque fonds génétique à 3 mois puis une analyse complète (incluant bilan martial, hépatique et rénal) avec prélèvements des organes accumulant des porphyrines a été effectuée à 6 mois.

Le métabolisme des porphyrines était comparable dans les 3 fonds génétiques avec une accumulation de porphyrines dans les hématies plus marquée pour BALB/c, alors qu'elle prédomine dans le plasma pour SV/129. Si l'anémie est évidente dans les 3 fonds génétiques, sans différence significative, les effets de l'hémolyse diffèrent: la réticulocytose est plus élevée sur BALB/c et plus faible sur C57BL/6 ; hyperferritinémie et élévation de LDH (hémolyse intravasculaire) sont impressionnantes sur SV/129. La fonction rénale n'est pas affectée par l'accumulation de porphyrines dans le rein, qui prédomine sur SV/129, alors que la porphyrinurie est plus massive sur BALB/c, avec des valeurs intermédiaires sur SV/129. La fonction hépatique est conservée sur BALB/c et C57BL/6, mais la cytolyse est marquée sur SV/129 sans cholestase. Le bilan martial et la distribution tissulaire du fer en excès suggèrent que le modèle SV/129 a une réponse altérée à cette surcharge secondaire à l'hémolyse.

Ces résultats préliminaires mettent en évidence des spécificités d'expression de la pathologie, selon le fonds génétique, concernant l'hémolyse et la prise en charge hépatique et rénale de la surcharge en fer. L'érythropoïèse de stress, les fonctions rénale et hépatique représentent des déterminants potentiels de l'évolution de la maladie et de futures cibles pour de futurs développements physiopathologiques et thérapeutiques.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #2399 : Des mutations dans la voie de signalisation de VEGFR3 expliquent environ 40% des lymphœdèmes primaires familiaux

#### Auteurs :

Elodie Fastré (1), Matthieu Schlögel (1), Antonella Mendola (1), Nicole Revencu (2), Isabelle Quere (3), Laurence Boon (4), Pascal Brouillard (1), Miikka Vikkula (5)

1. Laboratoire de Génétique Moléculaire Humaine, Institut de Duve, Université catholique de Louvain, Bruxelles, Belgique
2. Centre de Génétique Humaine, Université catholique de Louvain, Bruxelles, Belgique
3. Département de Médecine Vasculaire, Hôpital Universitaire de Montpellier, Montpellier, France
4. Laboratoire de Génétique Moléculaire Humaine, Institut de Duve, & Centre des Anomalies Vasculaires, Cliniques Universitaires Saint-Luc, Université catholique de Louvain, Bruxelles, Belgique
5. Laboratoire de Génétique Moléculaire Humaine, Institut de Duve, & Walloon Excellence in Lifesciences and Biotechnology (WELBIO), Université catholique de Louvain, Bruxelles, Belgique

**Mots clefs :** Lymphœdème, séquençage à haut débit

#### Résumé :

**Contexte:** Le lymphœdème est causé par des dysfonctionnements des vaisseaux lymphatiques qui provoquent des gonflements invalidants apparaissant principalement au niveau des membres. Le lymphœdème peut être primaire (congénital) ou secondaire (acquis). Le lymphœdème primaire familial ségrège communément de manière autosomique dominante ou récessive. Il peut également se présenter en combinaison avec d'autres signes cliniques. Vingt-trois gènes mutés ont été identifiés dans différentes formes isolées ou syndromiques de lymphœdème (Brouillard et al., 2014). Cependant, la prévalence du lymphœdème primaire, expliqué par des altérations dans ces gènes, est inconnue. Dans cette étude, nous investiguons systématiquement 11 de ces gènes.

**Méthodes:** Nous avons criblé 503 patients index, incluant un quart de cas familiaux avec un lymphœdème primaire héréditaire. Un panel de séquençage ciblé à haut débit pour Ion Torrent (*Personal Genome Machine, PGM*) a été créé pour ces gènes. L'analyse des données a été réalisée avec le logiciel, Highlander, développé en interne (Helaers et al., *in prep*). Les critères de filtrage ont été: passe les filtres GATK (*Genome Analysis Tool Kit, Broad Institute*), proportion de l'allèle alternatif ( $\geq 0,25$ ), nombre de patients possédant le même changement ( $< 50$ ), dans 1000 genomes ( $n < 10$ ) / goNL ( $n \leq 5$ ) / ExAC ( $\text{fréq} \leq 0,0014$ ), impact déterminé dommageable par au moins 3 programmes de prédiction sur 6, et vérification *in silico* avec IGV (*Integrative Genome Viewer*).

**Résultats:** Les filtres nous ont permis de garder seulement 147 variants parmi approximativement 15 200 détectés. Nous avons limité ce nombre à 104 après des analyses de validation et de co-ségrégation, expliquant 20,7% des cas. Les gènes mutés dans notre cohorte sont *VEGFR3*, *FOXC2*, *KIF11*, *CCBE1*, *SOX18*, *GATA2*, et *GJC2*, par ordre décroissant du nombre de mutations. Aucune mutation n'a été rencontrée dans *GJA1*, *PTPN14*, *IKBK*, et *VEGFC*. Nous continuons d'élargir les analyses de co-ségrégation, détaillons davantage le phénotype clinique des patients, et essayons de mieux caractériser 29 variants additionnels de signification inconnue.

**Discussion:** La cause génétique des lymphœdèmes primaires reste inexpliquée pour environ 60% des patients avec une histoire familiale et 85% des cas sporadiques ou d'hérédité inconnue. L'identification de ces gènes est importante pour la compréhension de l'étiopathogénèse, la stratification, les traitements et la génération de modèles pour cette pathologie. La plupart des protéines qui sont codées par ces gènes mutés dans les lymphœdèmes primaires semblent agir dans une voie de signalisation commune autour du VEGFR3. Cela souligne le rôle important que cette voie joue dans le développement et la fonction lymphatique, et suggère que les gènes qui restent à découvrir pourraient également jouer un rôle dans cette voie.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #2410 : Un nouveau gène responsable de syndrome de Treacher Collins-Franceschetti.

#### Auteurs :

Frédéric Tran Mau Them (1), Beryl Laplace-Buihle (2), Corinne Collet (3), Alice Goldenberg (4), Manon Ricquebourg (3), Manon Girard (5), Elodie Sanchez (1), Marie Vincent (6), Thomas Guignard (5), Catherine Blanchet (7), Anne Boland-Auge (8), Marie Thérèse Bihoreau (8), Jean-Francois Deleuze (8), Jean-Baptiste Rivière (9), Jean-Louis Laplanche (3), Guillaume Captier (10), Farida Djouad (2), David Geneviève (1)

1. Département de Génétique Médicale et Inserm U1183, CHRU Montpellier et Institute of Regenerative Medicine and Biotherapies (IRMB), Montpellier, France
2. Unité Inserm U1183, Institute of Regenerative Medicine and Biotherapies (IRMB), Montpellier, France
3. UF de Génétique Moléculaire, Service de Biochimie et Biologie Moléculaire, AP-HP Hôpital Lariboisière, Paris, France
4. Service de Génétique Médicale, CHU Rouen, Rouen, France
5. Département de Génétique Médicale, CHRU Montpellier, Montpellier, France
6. Service de Génétique Médicale, CHU de Nantes, Nantes, France
7. Service d'ORL, CHRU Montpellier, Montpellier, France
8. Centre National de Génotypage, Institut de Génomique, CEA, Evry, France
9. Équipe GAD - Laboratoire de Génétique Moléculaire, Université de Bourgogne - Plateau technique de Biologie - CHU Dijon, Dijon, France
10. Service de Chirurgie Plastique Infantile, CHRU Montpellier, Montpellier, France

**Mots clefs :** Treacher Collins, Franceschetti, dysostose mandibulo faciale, exome, zebrafish

#### Résumé :

Le syndrome de Treacher Collins Franceschetti (STCF; OMIM 154500) est une pathologie génétique rare de transmission autosomique dominante ou plus rarement autosomique récessif. Le STCF correspond à la cause la plus fréquente de dysostose mandibulo-faciale, avec une prévalence estimée de 1 à 10.000 à 50.000 naissances. Le STCF est caractérisée par une atteinte essentiellement craniofaciale avec atteinte bilatérale du premier arc brachial responsable de microtie associé à une surdité, hypoplasie malaire, hypoplasie mandibulaire, fente palatine et d'autres anomalies faciales. A ce jour 3 gènes ont été identifiés comme responsable de STCF, à savoir *POLR1C*, *POLR1D* et *TCOF1*. Ces gènes participent à la synthèse des ARN ribosomiques mais sont également important pour la différenciation et la migration des cellules des crêtes neurales et la formation du massif cranio-facial. Après un travail de génotypage d'une large cohorte française de STCF, nous avons réalisé un séquençage de l'exome en trio chez quatre patients atteints du STCF et non mutés pour ces trois gènes connus. Nous avons identifié deux mutations non-sens de novo différentes dans un nouveau gène. Nous avons réalisé un morpholino contre l'ARN de ce gène chez des poissons zèbres avec un rapporteur des cellules dérivées des crêtes neurales (*FOXD3*) et du cartilage (*COL2A1*). Nous avons observé un phénotype mimant le phénotype humain à savoir une diminution importante de la mandibule et des branchies ainsi que l'impression d'une diminution de la migration des cellules issues des crêtes neurales. En conclusion nous avons identifié un 4eme gène de STCF, d'hérédité autosomique dominante. Cette découverte étend le nombre de pathologies nommées ribosomopathies.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

**#2418 : Genetic analysis in familial forms of sarcoidosis, a national project in the frame of GSF (French Group on Sarcoidosis)**

### Auteurs :

Alain CALENDER (1), Dominique VALEYRE (2), Raphaelle LAMY (1), Claire BARDEL (3), Pascal ROY (3), Vincent COTTIN (4), Gilles DEVOUASSOUX (4), Yves PACHECO (4)

1. Génétique Moléculaire et Médicale, Hospices Civils de LYON, LYON, France
2. Service de pneumologie, Hôpital Avicenne, PARIS, France
3. Service de biostatistiques, Hospices Civils de LYON, LYON, France
4. Service de pneumologie, Hospices Civils de LYON, LYON, France

**Mots clefs :** sarcoidosis, genetics, multifactorial disease, immunogenetics

### Résumé :

Sarcoidosis is a rare multi-systemic granulomatous disorder of still unknown origin. Sarcoidosis is diverse according to presentation, severity, outcome and needed treatments. Granulomas are considered as benign tumors formed by giant multinucleated epithelioid cells. They affect mainly lungs but also many other organs, such as kidney, skin, heart, brain, bones joints and endocrine glands. The prognosis is correlated to the risk of severe respiratory failure and putatively other organs defects. Sarcoidosis is a multifactorial disease with a combined influence of environmental (air pollution) and genetic factors. The disease may occur in a familial context (5% of cases) with a transmission suggestive of autosomal dominant mutations. The GSF network (Group Sarcoidosis France) has been created in order to establish a database on both sporadic and familial forms of the disease. The SARCFAM project has been developed in the frame of GSF and was able to identify and collect more than 140 families with at least two first-degree related cases, 20 of them being with 3 or more affected individuals. Apart from many clinical protocols, we initiated genetic investigations based first on putative candidate genes published by other investigators. One of this gene, BTNL2, localized to 6p21.3, has been associated to an increased risk to various infectious / inflammatory disease. A BTNL2 SNP polymorphism, rs2076530, is associated with the strongest relation with sarcoidosis incidence. BTNL2 produces a cofactor of CD86, a negative regulator of T-cell activation. The rs2076530 variant is a splice site mutation leading to a truncated protein, which deals with a putative role in sarcoidosis pathogenesis. Nevertheless, this splice variant was associated with an odds ratio (OR) equal to 2 to the onset of disease, and not with the familial predisposition, as indicated by our recent study (1). Such a situation may be relevant of a complex multi genic pathway and a major role of environment. Several candidate genes suggested by various association studies have been excluded in our series. We initiated recently a whole exome (WES) project focusing families with at least 3 first-degree related cases and a subset of nuclear families (trios). To date, no WES data have been published for sarcoidosis. Our preliminary data have suggested interesting variants in various molecular pathways (inflammasome, NF kappa B related, G proteins) related to the pathogenesis and formation of granulomas. We expect that a series of 10 to 20 critical genes might be involved in sarcoidosis, explaining more than 80% of the penetrance of the disease. The availability of an extensive clinical database will allow an evaluation of the role of these genes in the pathological profiles of sarcoidosis, including the number of organs affected, the severity of lesions, the short / mid / long term evolution and critically, the identification of biological criteria related to drugs resistance

## **BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES**

**#2423 : Identification of a common set of microRNAs deregulated in Autism Spectrum Disorders**

### **Auteurs :**

Laurence Colleaux (1), Lam Son Nguyen (1), Marilyn Lepleux (2), Mélanie Makhoulouf (3), Christelle Martin (2), Julien Fregeac (1), Karine Siquier-Pernet (1), Anne Philippe (1), François Feron (4), Bruno Gepner (4), Claire Rougeulle (3), Yann Humeau (2)

1. , INSERM UMR 1163, Laboratory of Molecular and pathophysiological bases of cognitive disorders, Paris Descartes – Sorbonne Paris Cité University, Imagine Institute, Necker-Enfants Malades Hospital, Paris, France
2. , Synapse in Cognition Laboratory, Institut Interdisciplinaire de NeuroSciences , UMR 5297 CNRS - Université de Bordeaux, Bordeaux, France
3. , Epigénétique et Destin Cellulaire, Université Paris Diderot, UMR 7216, Paris, France
4. , Faculté de Médecine Nord, Aix Marseille Université, NICN, CNRS UMR 7259, Marseille, France

**Mots clefs :** Autism Spectrum Disorders, microRNA, olfactory mucosal stem cell, neuron

### **Résumé :**

Autism spectrum disorder (ASD) is a neurodevelopmental disease caused by an interaction between genetic vulnerability and environmental factors. MicroRNAs (miRNAs) have emerged as key post-transcriptional regulators and are involved in multiple aspects of brain development and connectivity. Here, using olfactory mucosal stem cells biopsied from living patients, we identified a signature of four miRNAs (miR-146a, miR-221, miR-654-5p and miR-656) commonly deregulated in ASD. This signature is conserved in primary skin fibroblasts and allows discriminating between ASD and intellectual disability samples. Putative target genes of the differentially expressed miRNAs were enriched for pathways previously associated to ASD and altered levels of neuronal transcripts targeted by miR-146a, miR-221 and miR-656 were observed in patients' cells. In the mouse brain, miR-146a and miR-221 display strong neuronal expression in regions important for high cognitive functions, and we demonstrated that reproducing abnormal miR-146a expression in mouse primary cell cultures leads to impaired neuronal dendritic arborisation. These findings have diagnostic implications, they provide mechanistic connection between miRNAs deregulation and ASD pathophysiology, and may open new opportunities for therapeutic.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #2436 : Bilan de 2 ans de diagnostic moléculaire de l'holoprosencéphalie par approche ciblée NGS sur 20 gènes

#### Auteurs :

Christèle Dubourg (1), Wilfrid Carré (1), Houda Hamdi-Rozé (1), Charlotte Mouden (1), Linda Akloul (2), Sylvie Odent (2), Véronique David (1)

1. Service de Génétique Moléculaire et Génomique, CHU Pontchaillou, Rennes, France
2. Service de Génétique Clinique, CHU Hôpital Sud, Rennes, France

**Mots clefs :** holoprosencéphalie, NGS, ampliseq

#### Résumé :

L'holoprosencéphalie (HPE) est une anomalie du développement précoce qui résulte d'un défaut de clivage du prosencéphale ; elle représente la plus fréquente des anomalies de développement du cerveau (1/10.000 naissances, 1/250 conceptions). L'HPE est caractérisée par une hétérogénéité phénotypique mais aussi par une hétérogénéité génétique. Son mode de transmission d'abord considéré comme dominant est maintenant établi comme multigénique, résultant d'anomalies génétiques pouvant impliquer différents gènes parmi les quatre gènes majeurs (*SHH*, *ZIC2*, *SIX3*, *TGIF1*) et plusieurs gènes mineurs appartenant aux voies de signalisation impliquées dans le développement cérébral.

Le diagnostic moléculaire de l'HPE consistait jusqu'à fin 2013 en l'analyse des 4 gènes majeurs par les techniques de Sanger et de MLPA. Une altération génique était alors identifiée dans 27% des cas. Pour améliorer ce rendement, nous avons élaboré une approche NGS ciblée sur 20 gènes avec une couverture de 111 kb au total, en utilisant la technique Ampliseq™ de Life Technologies™.

Cent patients avec HPE ont été analysés en rétrospectif, environ 150 patients en prospectif, et cette approche de NGS ciblé nous a permis d'augmenter le rendement du diagnostic moléculaire jusqu'à 33%. Les exemples de diagnostics supplémentaires réalisés grâce à cette approche NGS ciblée impliquent surtout les gènes *FGFR1*, *FGF8* (mutations *de novo*) et *DISP1* (mutations hétérozygotes composites). Par ailleurs, dans 10% de cas supplémentaires, des variants identifiés dans les gènes *FGFR1*, *FGF8*, *PTCH1*, *DLL1*, *CDON*, *DISP1*, *HHAT* restent encore à valider fonctionnellement. Cette technique permet également d'identifier les CNV même si ils doivent être ensuite validés par MLPA.

L'approche ciblée NGS a montré son intérêt pour le diagnostic moléculaire de l'holoprosencéphalie ; il s'agit d'une période transitoire car une évolution vers le « mini-exome » (panel d'environ 4800 gènes OMIM) est envisagée de façon à s'adapter à l'évolutivité importante des connaissances dans cette pathologie.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #2443 : Etude de la conformation chromatinienne de cellules humaines : Identification d'éléments de régulation à distance du gène CFTR

#### Auteurs :

Stéphanie MOISAN (1), Soizic BERLIVET (2), Chandran KA (1), Josée DOSTIE (2), Claude FEREC (1)

1. Inserm U1078 Génétique, Génomique Fonctionnelle et Biotechnologies, CHRU de Brest, BREST, France
2. Department of Biochemistry and Goodman Cancer Research Center, McGill University, Montréal, Canada

**Mots clefs :** CFTR, Mucoviscidose, organisation chromatinienne, expression génique, promoteur, enhancer, CTCF

#### Résumé :

Le gène *CFTR* (*Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator*) a été identifié en 1989. Vingt-cinq ans après, les mécanismes contrôlant sa fine expression, sont encore mal compris. Bien que plus de 2000 mutations aient été découvertes, il reste des patients pour qui le génotype n'a pas été établi. Les éléments de régulation, décrits au sein du promoteur, ne peuvent à eux seuls expliquer cette complexe régulation tissu-spécifique. Des éléments de régulation à distance, en cis ou en trans, sont certainement impliqués dans ce contrôle d'expression. L'objectif de ce projet est de mieux décrypter les mécanismes de régulation à distance du gène *CFTR* en identifiant des séquences régulatrices éloignées, mais pouvant, par des mécanismes de repliement, interagir spécifiquement avec celui-ci.

Afin d'étudier ces contacts chromosomiques, nous avons, dans un premier temps, mis au point la technique de Capture de Conformation Chromosomique (3C). Suite à cette technique, nous sommes passés à une approche à plus grande échelle, la technique de Copie Conforme de 3C (5C), qui permet de mesurer des milliers d'interactions chromatinienne en une analyse.

L'organisation spatiale d'une région d'environ 790 kb recouvrant le gène *CFTR*, a été analysée dans des cultures primaires de cellules épithéliales nasales, exprimant le gène *CFTR* et des fibroblastes de peau, ne l'exprimant pas ou très peu. Les interactions entre les régions de ce locus et le promoteur *CFTR* ont été étudiées par séquençage nouvelle génération sur Ion PGM™. Nous avons comparé ces conformations chromatinienne afin d'identifier des éléments de régulation spécifiques d'une expression de *CFTR*.

Notre approche a été validée par l'identification de régions régulatrices précédemment décrites. De plus, nous avons mis en évidence de nouveaux contacts chromatinienne avec le promoteur *CFTR*. Nous avons démontré que deux des régions entrant spécifiquement en contact avec le promoteur *CFTR*, augmentaient significativement son expression. Nous suggérons que ces deux nouveaux enhanceurs, situés de part et d'autre du gène, se retrouvent à proximité du promoteur via la formation d'une boucle d'ADN initiée par le recrutement de facteurs CTCF.

Grâce à la technique 3C et ses variantes, l'identification de nouvelles mutations à distance du gène pourraient expliquer des dérégulations de son expression.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #2452 : Apport du séquençage NGS dans le diagnostic moléculaire des cas de non-compaction ventriculaire gauche

#### Auteurs :

Valérie CHANAVAT (1), Alexandre JANIN (1), Claire DAUPHIN (2), Karine N'GUYEN (3), Renaud TOURAINE (4), Nathalie ROUX-BUISSON (5), Gilles MILLAT (1)

1. Laboratoire de Cardiogénétique Moléculaire, CBE, CHU LYON, BRON, France
2. Service de Cardiologie, Centre Hospitalier Gabriel-Montpied, Clermont-Ferrand, CLERMONT-FERRAND, France
3. Département de Génétique Médicale, , CHU Timone enfants, MARSEILLE, France
4. Service de Génétique Clinique, Chromosomique et Moléculaire, CHU de Saint-Etienne, SAINT-ETIENNE, France
5. Service de Biochimie Génétique et Moléculaire, CHU de Grenoble, GRENOBLE, France

**Mots clefs :** Séquençage NGS, Cardiomyopathies, diagnostic moléculaire, non-compaction ventriculaire

#### Résumé :

Les cardiomyopathies héréditaires sont des atteintes primitives dans lesquelles le muscle cardiaque est structurellement et fonctionnellement anormal. Elles sont généralement subdivisées en 5 sous-groupes: cardiomyopathie hypertrophique (CMH), cardiomyopathie dilatée (CMD), cardiomyopathie restrictive (CMR), cardiomyopathie ventriculaire droite arythmogène (CVDA) et non-compaction du ventricule gauche (NCVG).

Notre étude était axée sur une cohorte de 10 patients porteurs de NCVG pour lesquels une précédente étude explorant uniquement les gènes les plus prévalents impliqués dans les cardiomyopathies n'avait pas permis d'identifier de mutation pathogène. Cette cohorte a été ré-analysée en réalisant un séquençage NGS (NextSeq500, Illumina) de bibliothèques SeqCap EZ (Roche NimbleGen) réalisées à partir d'un panel custom constitué de 95 gènes impliqués dans la Mort Subite Cardiaque. L'analyse de la couverture des gènes explorés et l'identification des différents variants ont été effectuées en utilisant soit un pipeline basé sur le logiciel NextGENe 2.3.4.2, soit un pipeline développé par Sophia Genetics.

Les résultats obtenus montrent que la stratégie analytique choisie permet de couvrir parfaitement 100% des régions ciblées avec une profondeur minimale pour chaque nucléotide supérieure à 30X. Des variations pathogènes ou potentiellement ont pu être détectées chez 5 patients : 4 patients présentaient des mutations affectant le gène *HCN4*, et 1 patient était porteur d'une délétion totale à l'état homozygote du gène *PKP2*. Les mutations *HCN4* ont été identifiées chez des patients combinant non-compaction du ventricule gauche et arythmie cardiaque, plus particulièrement, bradycardie sinusale. Ces résultats confirment les précédents travaux de l'équipe de Milano et collègues (J. Am. Coll. Cardiol. 2014 64:745-56) et suggèrent que, devant un tableau clinique présentant ce phénotype clinique (non-compaction ventriculaire + bradycardie sinusale), des mutations affectant le gène *HCN4* doivent être suspectées. De façon plus inattendue, une délétion totale homozygote du gène *PKP2* a également été mise en évidence chez un bébé décédé à 12 jours de vie avec une forme sévère de non-compaction. Des délétions hétérozygotes de *PKP2* ont été rapportées en association avec un phénotype de CVDA mais aucune délétion homozygote du gène n'a été rapportée à ce jour. Le phénotype clinique de ce bébé était cependant très concordant à celui de la souris KO *Pkp2* et suggère donc que cette anomalie moléculaire majeure soit la cause de la pathologie.

L'utilisation de ce panel en routine permet donc à la fois de mettre en évidence l'implication de nouveaux gènes dans les NCVG et d'identifier de nouveaux variants génomiques sur des gènes connus pour être impliqués dans cette pathologie. L'identification des anomalies moléculaires responsables de NCVG est cruciale pour mieux définir les corrélations phénotype/génotype et donc la physiopathologie de cette maladie.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

**#2484 : Syndrome de Brown-Vialetto-Van Laere : une pathologie neuromusculaire héréditaire traitable par la riboflavine.**

### Auteurs :

Alice Veauville-Merlié (1), Laurence Lion-François (2), Agathe Roubertie (3), Véronique Manel (2), Christian Hamel (4), Sébastien Gay (5), Sophie Vasseur (1), Christine Vianey-Saban (1), Cécile Acquaviva-Bourdain (1)

1. Maladies Héréditaires du Métabolisme et Dépistage Néonatal, CHU Lyon, Centre de Biologie et Pathologie Est, Lyon, France
2. Neuropédiatrie, CHU Lyon, Hôpital Femme Mère Enfant, Lyon, France
3. Neuropédiatrie, CHU Montpellier, Hôpital Gui de Chauliac, Montpellier, France
4. Centre de Référence des Maladies Génétiques Sensorielles, CHU Montpellier, Hôpital Gui de Chauliac, Montpellier, France
5. Neuropédiatrie, CH Chalon sur Saône, Chalon sur Saone, France

**Mots clefs :** Syndrome de Brown-Vialetto-Van Laere, Riboflavine (Vitamine B2), Syndrome bulbaire

### Résumé :

Le syndrome de Brown-Vialetto-Van Laere (BVVLS) est une pathologie neurologique dominée par un syndrome bulbaire de transmission autosomique récessive secondaire à des anomalies des transporteurs cytoplasmiques de la riboflavine, RFTV2 et RFVT3, respectivement codés par les gènes *SLC52A2* et *SLC52A3*.

Moins de 60 cas sont décrits dans la littérature et l'étude des gènes impliqués dans le métabolisme de la riboflavine en séquençage haut débit a permis de diagnostiquer 2 nouveaux cas en France.

A, 8 ans, a été admise en neuropédiatrie pour un amaigrissement associé à une instabilité à la marche. L'interrogatoire retrouve une dyspnée d'effort, une dysphagie, des troubles de la marche et une voix nasonnée évoluant depuis plusieurs mois. L'examen clinique montre une atteinte du tronc cérébral avec une paralysie faciale périphérique bilatérale, des fasciculations du menton et de la langue, une toux inefficace, une dysarthrie et des réflexes ostéotendineux vifs et symétriques. En raison d'une aggravation clinique, une trachéotomie et une gastrostomie ont été réalisées. Le bilan métabolique (acides organiques urinaires et acylcarnitines plasmatiques) est normal. Une supplémentation en riboflavine (32 mg/kg/j) a permis une amélioration clinique : retrait de la trachéotomie, maintien de la gastrostomie pour la prise médicamenteuse, marche normale, pratique du vélo et scolarisation. L'étude moléculaire a permis de confirmer le diagnostic de BVVLS avec identification d'un nouveau variant à l'état homozygote dans le gène *SLC52A3* (c.1234T>C, p.Tyr412His), prédit délétère.

C, 17 ans, a été adressée en neuropédiatrie, pour aggravation de troubles de l'équilibre ayant débutés à l'âge de 12 ans. Un déficit auditif sensoriel est décrit depuis l'enfance puis à 16 ans, un déficit visuel d'installation progressive est apparu. A 17 ans, elle présente une ataxie proprioceptive, une neuropathie axonale, une atteinte bulbaire, un déficit moteur prédominant aux membres supérieurs et une neuropathie optique sévère. Son état neurologique s'est brutalement détérioré, avec un handicap sensoriel et moteur sévère, nécessitant la pose d'une trachéotomie et d'une gastrostomie. Le bilan métabolique évoque un déficit multiple en acyl-CoA déshydrogénases (MADD). La supplémentation en riboflavine (24 mg/kg/j) a permis une amélioration progressive : retrait de la trachéotomie et de la gastrostomie, regain d'autonomie 8 mois après le début du traitement, amélioration de l'acuité visuelle et reprise de la scolarité. Le diagnostic de BVVLS a été confirmé par la mise en évidence de 2 nouvelles mutations hétérozygotes dans le gène *SLC52A2*, c.322C>T (p.Gln108\*) et c.1088C>T (p.Pro363Leu), prédites délétères.

Devant un tableau clinique évocateur de BVVLS, associé ou non à des anomalies biologiques évocatrices de MADD, il est indispensable d'instaurer un traitement d'épreuve par la riboflavine et de confirmer le diagnostic par l'étude des gènes impliqués dans le métabolisme de la riboflavine.

**Auteurs :**

Boudour Khabou (1)

1. , , SFAX, Tunisie

**Mots clefs :** PFIC3, ABCB4, polymorphisme synonyme, MFOLD, HSF, épissage

**Résumé :**

La choléstase intrahépatique progressive type3(PFIC3) est une pathologie hépatique rare qui se manifeste par l'apparition de choléstase précoce et progresse vers une cirrhose et une insuffisance hépatique avant l'âge adulte. Elle est à transmission autosomique récessive dont le gène responsable est le gène *ABCB4* codant la protéine MDR3.

L'objectif de cette étude est la recherche de l'anomalie moléculaire qui serait à l'origine de la pathologie chez 6 patients atteint de la forme PFIC3. Ainsi les exons ainsi que les régions introniques flanquantes ont été amplifié par PCR ensuite séquencés.

Les résultats ont montré la présence de polymorphismes synonymes dans les exons 4, 6,8 et dans l'intron 26. Une analyse de ces variations a été faite moyennant le logiciel MFOLD pour prédire leur effet sur la structure secondaire du pre-ARNm. Les résultats ont montré que les transitions exonique C > T de l'exon 4 et intronique T > C de l'intron 26 provoquent des changements dans la composition et l'orientation des boucles et des tiges de la structure de pré mRNA en comparaison avec structurale du pré ARNm normal. De plus l'analyse par le logiciel HSF, montre que ces mêmes variations modifient l'emplacement du site accepteur de l'exon 4 et de l'exon 26 ce qui affecterait le recrutement des composants de splicéosome ainsi que l'affinité vis-à-vis des protéines qui se lient sur les snRNA au cours de l'épissage. Ces résultats suggèrent le rôle des polymorphismes identifiés sur la structure et la régulation de l'épissage du pre-ARNm du gène ABCB4 .

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

**#2580 : GABA/Glutamate synaptic pathways targeted by integrative genomic and electrophysiological explorations distinguish autism from intellectual disability**

### Auteurs :

Frédérique Bonnet-Brilhault (1), Servane Alirol (2), Romuald Blanc (1), Sébastien Bazaud (2), Sylviane Marouillat (2), Rose-Anne Thépault (2), Christian Andres (3), Eric Lemonnier (4), Catherine Barthélémy (1), Martine Raynaud (5), Annick Toutain (5), Marie Gomot (1), Frédéric Laumonier (5)

1. Service de pédopsychiatrie et d'explorations fonctionnelles, UMR 930 "Imagerie et cerveau", CHRU, INSERM, Université François Rabelais de Tours, Tours, France
2. UMR930 "Imagerie et cerveau", INSERM, Université François-Rabelais de Tours, Tours, France
3. Service de Biochimie et de Biologie Moléculaire, UMR930 "Imagerie et cerveau", CHRU, INSERM, Université François Rabelais de Tours, Tours, France
4. Centre expert autisme, CHU de Limoges, Limoges, France
5. Service de Génétique, UMR930 "Imagerie et cerveau", CHRU, INSERM, Université François Rabelais de Tours, Tours, France

**Mots clefs :** autism; intellectual disability; whole-exome sequencing; electrophysiological explorations; multi-hit genetic model

### Résumé :

Phenotypic and genetic heterogeneity is predominant in autism spectrum disorders (ASD), for which the molecular and pathophysiological bases are still unclear. Significant co-morbidity and genetic overlap between ASD and other neurodevelopmental disorders are also well established. However, little is understood regarding the frequent observation of a wide phenotypic spectrum associated with deleterious mutations affecting a single gene even within multiplex families.

We performed a clinical, neurophysiological (*in vivo* electro-encephalography - Auditory Evoked Related Potentials) and genetic (whole-exome sequencing) follow-up analysis of two families with known deleterious *NLGN4X* gene mutations (either truncating or overexpressing) present in individuals with ASD and/or with intellectual disability (ID). Complete phenotypic evaluation of the pedigrees in the ASD individuals showed common specific autistic behavioural features and neurophysiological patterns (abnormal MisMatch Negativity in response to auditory change) that were absent in healthy parents as well as in family members with isolated ID. Whole-exome sequencing identified in ASD patients from each family identified a second rare inherited genetic variant, affecting either the *GRLB* or the *ANK3* genes encoding *NLGN4X* interacting proteins expressed in inhibitory or in excitatory synapses, respectively. The *GRLB* and *ANK3* mutations were absent in relatives with ID as well as in control databases.

In summary, our findings provide evidence of a double-hit genetic model focused on excitatory/inhibitory synapses in ASD, that is not found in isolated ID, associated with an atypical *in vivo* neurophysiological pattern linked to predictive coding.

**Auteurs :**

Laras Pitayu (1)

1. I2BC, Université Paris-Sud, Orsay, France

**Mots clefs :** POLG-related diseases, mtDNA stability, yeast-based drug screening, *C. elegans*, patient fibroblasts

**Résumé :**

Mitochondria are organelles that have their own DNA (mitochondrial DNA, mtDNA) whose maintenance is necessary for the majority of ATP production in eukaryotic cells. Defects in mtDNA maintenance or integrity are responsible for numerous diseases. The DNA polymerase  $\gamma$  (POLG) ensures proper mtDNA replication and repair and mutations in *POLG* are a major cause of mitochondrial disorders including hepatic insufficiency, Alpers syndrome, progressive external ophthalmoplegia, sensory neuropathy and ataxia. Mutations in *POLG* are also associated with parkinsonism. To date, no effective therapy is available. Based on the conservation of mitochondrial function from yeast to human, we used *Saccharomyces cerevisiae* and *Caenorhabditis elegans* as first pass filters to identify a chemical that suppresses mtDNA instability in cultured fibroblasts of a POLG-deficient patient. We showed that this unsuspected compound, clofilium tosylate, belonging to a class of antiarrhythmic agents, prevents mtDNA loss of all yeast POLGmutants tested, improves behavior and mtDNA content of polg-1 deficient worms and increases mtDNA content of quiescent POLG-deficient fibroblasts. Furthermore, the mode of action of the drug seems conserved as clofilium tosylate increases POLG steady state level in yeast and human cells. Two other antiarrhythmic agents (FDA-approved) sharing common pharmacological properties and chemical structure also show potential benefit for POLG deficiency in *C. elegans*. Our findings provide evidence of the first mtDNA-stabilizing compound that may be an effective pharmacological alternative for the treatment of POLG-related diseases.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

**#2592 : Un polymorphisme codant du gène BMP2 est associé à une surcharge en fer chez les patients atteints de l'hémochromatose non-HFE.**

### Auteurs :

Dimitri Tchernitchko (1), Nathalie Theou-Anton (1), Jérôme Lamoril (1)

1. Département de génétique, Hôpital Bichat, APHP, Paris, France

**Mots clefs :** Hémochromatose, non-HFE, BMP2, polymorphisme, susceptibilité

### Résumé :

L'hémochromatose est une maladie multifactorielle et multigénique, les facteurs environnementaux et génétiques contribuant au développement de la surcharge en fer chez l'homme. L'hémochromatose héréditaire (HH) est caractérisée par une surcharge tissulaire en fer due à l'expression défectueuse de l'hepcidine, le principal régulateur du métabolisme du fer. La plupart des patients Européens atteints de l'HH sont homozygotes pour la mutation p.Cys282Tyr du gène *HFE*. Les gènes *TFR2*, *SLC40A1*, *HJV* et *HAMP* sont connus pour provoquer des formes rares de l'hémochromatose. Cependant, les patients présentant une surcharge en fer inexplicée sont fréquemment trouvés. La stimulation de l'expression de l'hepcidine hépatique par le fer nécessite l'activation de la voie BMP / SMAD / HJV. Il a été démontré que certaines « bone morphogenetic proteins » (BMPs), et notamment la protéine BMP6, jouent un rôle central dans cette activation.

Utilisant la stratégie « gène-candidat », nous avons identifié récemment une nouvelle forme d'HH causée par les mutations du gène *BMP6*. Dans le travail présent, nous avons utilisé la même stratégie et analysé le gène *BMP2* chez les patients présentant une surcharge en fer inexplicée. Nous avons effectué le séquençage du gène *BMP2* chez 205 patients HH non-*HFE*. Une analyse du gène a également été effectuée chez 159 contrôles sains. Nous avons trouvé une association entre le SNP c.570A > T, p.Arg190Ser (rs235768) et la surcharge en fer chez les patients (modèle récessif, OR (IC à 95%), 2,22 (1.22 – 4.02), P = 0,0078). En plus, nous avons observé que les taux de la ferritine sérique et de la saturation de la transferrine étaient significativement plus élevés chez les patients avec le génotype TT par rapport aux porteurs des génotypes TA et AA.

Les résultats obtenus suggèrent que le rs235768 *BMP2* peut être un facteur contribuant à la surcharge en fer chez les patients non-*HFE*.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #2597 : Nouvelles définitions pratiques pour le diagnostic de l'ataxie spastique autosomique récessive de Charlevoix-Saguenay (ARSACS)

#### Auteurs :

Julie PILLIOD (1), Sébastien MOUTTON (2), Julie LAVIE (1), Elise MAURAT (1), Christophe HUBERT (3), Nadège BELLANCE (1), Nada HOUCINAT (2), Julien VAN-GILS (2), Christelle, M DURAND (1), Caroline ROORYCK (1), Didier LACOMBE (1), Rodrigue ROSSIGNOL (1), Giovanni STEVANIN (4), Giovanni BENARD (1), Alexandra DURR (5), Cyril GOIZET (1), Isabelle COUPRY (1)

1. Laboratoire MRGM, Université de Bordeaux, Bordeaux, France
2. Service de Génétique Médicale, CHU Pellegrin, Bordeaux, France
3. Centre de Génomique Fonctionnelle, Université de Bordeaux, Bordeaux, France
4. INSERM U1127, Institut du Cerveau et de la Moelle, Paris, France
5. Sorbonne Université, UPMC Université Paris VI, Paris, France

**Mots clefs :** Ataxie, ARSACS, réseau mitochondrial, bio-marqueur

#### Résumé :

**Objective:** Autosomal recessive spastic ataxia of Charlevoix-Saguenay (ARSACS) is caused by mutations in the SACS gene. SACS encodes saccin, a protein whose function remains unknown, despite the description of numerous protein domains and the recent focus on its potential role in the regulation of mitochondrial physiology. This study aimed to identify new mutations in a large population of ataxic patients and to functionally analyze their cellular effects in the mitochondrial compartment.

**Methods:** A total of 321 index patients with spastic ataxia selected from the SPATAX network were analyzed by direct sequencing of the SACS gene, and 156 patients from the ATAXIC project presenting with congenital ataxia were investigated either by targeted or whole-exome sequencing. For functional analyses, primary cultures of fibroblasts were obtained from 11 patients carrying either mono- or biallelic variants, including one case harboring a large deletion encompassing the entire SACS gene.

**Results:** We identified biallelic SACS variants in 33 patients from SPATAX, and in five nonprogressive ataxia patients from ATAXIC. Moreover, a drastic and recurrent alteration of the mitochondrial network was observed in 10 of the 11 patients tested.

**Interpretation:** We have expanded the spectrum of ARSACS-related phenotypes (which now encompass congenital ataxia) and mutations in SACS, highlighting the potential difficulties of interpreting molecular results facing atypical presentations in a routine diagnosis practice. Moreover, we suggest that the observed mitochondrial network anomalies could be used as a trait biomarker for the diagnosis of ARSACS when SACS molecular results are difficult to interpret (i.e., missense variants and heterozygous truncating variant). Based on our findings, we propose new diagnostic definitions for ARSACS using clinical, genetic, and cellular criteria.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

**#2614 : Caractérisation moléculaire d'un grand réarrangement complexe du gène F7 au décours d'un diagnostic de déficit combiné en facteurs VII et X de la coagulation.**

### Auteurs :

Grégory MOULIS (1), Philippe De MOERLOOSE (2), Amandine BRETTON (1), Jean-François SCHVED (1), Muriel GIANSILY-BLAIZOT (1)

1. Département d'hématologie biologique, CHU de Montpellier, Montpellier, France
2. Angiologie et Hémostase, Hôpitaux Universitaires de Genève, Genève, Suisse

**Mots clefs :** gène F7, grands réarrangements, points de cassure, déficit constitutionnel en FVII

### Résumé :

Le déficit constitutionnel en facteur (F) VII est le plus fréquent des déficits rares en facteur de la coagulation de transmission autosomale récessive (fréquence de 1/300 000 en Europe). Il se caractérise par une très grande hétérogénéité moléculaire. Si les mutations ponctuelles sont majoritaires sur le gène *F7* ([http://www.umd.be/F7/W\\_F7/index.html](http://www.umd.be/F7/W_F7/index.html)), de grands réarrangements sont de plus en plus fréquemment mis en évidence par MLPA (*Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification*). Cependant, rares sont ceux dont les points de cassure sont identifiés. Nous rapportons ici le cas d'une double délétion complexe sur le gène *F7*.

Un diagnostic de déficit combiné en FVII et en FX est posé chez une patiente de 40 ans au décours d'une hémorragie du post-partum devant des taux d'activité coagulante des FVII et FX modérément abaissés à 52 et 56% respectivement. Les gènes *F7* et *F10* étant très proches sur le chromosome 13, une première analyse de la région par MLPA est réalisée à l'université de Bonn (1). Elle ne retrouve qu'une délétion hétérozygote des exons 4 à 8 et partiellement de l'exon 9 du gène *F7* sans anomalie du *F10*. L'analyse est alors complétée par le séquençage direct du gène *F10* mettant en évidence la mutation faux-sens *F10*:p.Ala339Thr à l'état hétérozygote. Le prélèvement nous est adressé pour confirmation par QMPSF (*Quantitative Multiplex PCR of Short Fragments*) et bornage de la délétion du gène *F7*.

L'analyse QMPSF explorant les 9 exons et la région non traduite du gène *F7*, montre que le grand réarrangement emporte également l'exon 3. Ainsi, l'exon 2 et la région 5'terminale de l'exon 9 sont présents en double copie, permettant de positionner des amorces pour amplifier le fragment réarrangé. Le séquençage du fragment de jonction révèle un grand réarrangement complexe (*F7*:c.131-953\_146del et *F7*:c.291\_996del) composé de deux grandes délétions de 967 et 7753 paires de bases chacune. La délétion c.291\_996del a pour particularité, la présence d'une séquence homologue de 9 nucléotides [GAGAGGACG] aux extrémités du fragment délété. Deux des quatre points de cassure sont situés sur l'exon 3 non exploré par le kit commercial MLPA. Or, l'intron 2 et l'exon 3 sont fréquemment le siège de réarrangements du gène *F7*, soit 2 cas sur les 3 dont les points de cassure ont été décrits dans la littérature. IL s'agit d'une région riche en GC avec de nombreuses zones répétées favorisant les recombinaisons.

Ce nouveau cas d'une double délétion complexe du gène *F7* impliquant largement l'exon 3 souligne l'importance d'explorer finement cette région afin de ne pas sous-diagnostiquer ces grands réarrangements.

(1) Pavlova A, et al Haemophilia. 2015;21(3):386-91. 25582404.

(2) Giansily-Blaizot M, et al Br J Haematol. 2007;138(3):359-65

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #2615 : Identification des bases moléculaires de l'arthrite juvénile idiopathique (AJI) par exome séquençage : résultats de l'étude GenesInJIA.

#### Auteurs :

Frédéric Tran Mau Them (1), Elodie Sanchez (1), Sylvie Grandemange (2), Pascale Louis-Plence (3), Maïlys Cren (4), Bertrand Isidor (5), Tu Anh Tran (6), Séverine Guillaume Czitrom (7), Pascal Pillet (8), Soizic Tiriou (9), Sylviane Poignant (9), Sylvie Jean (10), Manon Girard (11), Thomas Guignard (11), Jacques Puechberty (11), Jean-Baptiste Rivière (12), Anne Boland-Auge (13), Marie Thérèse Bihoreau (13), Jean-Francois Deleuze (13), Laurent Journot (14), Anne Coudert (15), Michel Rodière (16), Aurélia Carbasse (16), Eric Jeziorski (16), Christian Jorgensen (3), Marjolaine Willems (1), Florence Apparailly (3), Isabelle Toutou (2), David Geneviève (1)

1. Département de Génétique Médicale et Inserm U1183, CHRU Montpellier et Institute of Regenerative Medicine and Biotherapies (IRMB), Montpellier, France
2. Laboratoire des maladies autoinflammatoires et Unité Inserm U1183, CHRU Montpellier et Institute of Regenerative Medicine and Biotherapies (IRMB), Montpellier, France
3. Unité Inserm U1183, Institute of Regenerative Medicine and Biotherapies (IRMB), Montpellier, France
4. Unité Inserm U1183, CHRU Montpellier et Institute of Regenerative Medicine and Biotherapies (IRMB), Montpellier, France
5. Service de Génétique Médicale, CHU de Nantes, Nantes, France
6. Rhumatologie pédiatrique, CHU Nîmes, Nîmes, France
7. Rhumatologie pédiatrique, CHU Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France
8. Rhumatologie pédiatrique, Hôpital Pellegrin-enfants, CHU Bordeaux, Bordeaux, France
9. Rhumatologie pédiatrique, CHU de Nantes, Nantes, France
10. Rhumatologie pédiatrique, CHU Rennes, Rennes, France
11. Département de Génétique Médicale, CHRU Montpellier, Montpellier, France
12. Équipe GAD - Laboratoire de Génétique Moléculaire, Université de Bourgogne - Plateau technique de Biologie - CHU Dijon, Dijon, France
13. Centre National de Génotypage, Institut de Génomique, CEA, Evry, France
14. plateforme MGX, Université Montpellier, Montpellier, France
15. HPC@LR - centre de compétence calcul intensif, Université Montpellier, Montpellier, France
16. Rhumatologie pédiatrique, CHRU Montpellier, Montpellier, France

**Mots clefs :** Arthrite, arthrite juvénile idiopathique, exome, mutation, autoimmunité, autoinflammation

#### Résumé :

L'arthrite juvénile idiopathique (AJI) est la principale cause de rhumatisme inflammatoire chez l'enfant. L'AJI est une pathologie auto-immune très hétérogène cliniquement. L'AJI est divisée en 7 sous entités cliniques en fonction du nombre d'articulation atteintes, de symptômes extra-articulaire et de la présence ou non ainsi que du type d'anticorps. L'AJI est considéré comme une maladie multifactorielle, c'est-à-dire due à la combinaison de facteurs génétiques et des facteurs environnementaux. Les études type GWAS et gènes candidats n'ont pas permis d'expliquer les bases génétiques de l'AJI. Les nouveaux outils génétiques (le séquençage nouvelle génération) ont permis d'identifier quelques gènes impliqués dans l'AJI (*LACC1*, *COPA* et *STAT3*), et ont ainsi confirmé que certaines formes d'AJI pourraient être dues à des maladies monogéniques Mendéliennes. Dans le but d'identifier de nouveaux gènes impliqués dans l'AJI et tirant parti d'un PHRC interrégional (comportant 5 centres), nous avons réalisé le séquençage de 129 exomes (43 trios). Les patients atteints représentent 5 des 7 sous-groupes d'AJI. Parmi tous les variant identifié par analyse in silico, nous avons sélectionné 60 gènes candidats par leur fonctions, le mode d'hérédité et la rareté du variant. Nous avons ainsi identifié des mutations dans les gènes *CECR1*, *SLC29A3*, *NLRP1* et *IFIH1* par exemple. Basé sur ces données, nous confirmons que certaines AJI sont dues à des maladies monogéniques, soit syndromiques soit non syndromiques. Par ailleurs, certains gènes sont impliqués à la fois dans l'auto-inflammation et l'auto-immunité bousculant là encore un autre dogme. Des études fonctionnelles sont en cours pour étudier les mécanismes physiopathologiques d'autres nouveaux gènes. Toutefois, des patients supplémentaires sont nécessaires pour confirmer ces hypothèses. Enfin, ces résultats permettent de modifier la classification actuelle des AJI, d'apporter un diagnostic précis et de donner un conseil génétique approprié. Nous espérons également que l'identification des bases physiopathologies de ces maladies génétiques pourra permettre de mieux orienter la prise en charge et les traitements ainsi que de développer de nouvelles pistes thérapeutiques dans l'espoir d'une thérapie ciblée au sein d'une médecine personnalisée.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

**#2625 : Apport du séquençage nouvelle génération par ciblage dans le génotypage des cholestases et cholélithiases intrahépatiques héréditaires.**

### Auteurs :

Véronique Barbu (1), Yves Chrétien (2), Eric Fernandez (3), Laure Muller (3), Fabienne Dufernez (3), Christophe Corpechot (4), Olivier Chazouillères (5), Chantal Housset (6)

1. LCBGM, Pôle de Biologie Médicale et Pathologie, AP HP, HUEP, Hôpital Saint Antoine et UMR\_S938, INSERM, UPMC Univ Paris 06, Paris, France
2. Equipe Housset, CdR St Antoine , UMR\_S938, INSERM, UPMC Univ Paris 06, Paris, France
3. LCBGM, Pôle de Biologie Médicale et Pathologie, AP HP, HUEP, Hôpital Saint Antoine , Paris, France
4. CRMIVB, Service d'Hépatologie, , AP HP, HUEP, Hôpital Saint Antoine et UMR\_S938, INSERM, Paris, France
5. CRMIVB, Service d'Hépatologie, , AP HP, HUEP, Hôpital Saint Antoine et UMR\_S938, INSERM, UPMC Univ Paris 06, Paris, France
6. Equipe Housset, CdR St Antoine & CRMIVB, UMR\_S938, INSERM, UPMC Univ Paris 06 & AP HP, HUEP, Hôpital Saint Antoine , Paris, France

**Mots clefs :** Séquençage Nouvelle Génération, Cholestase intrahépatique, Cholélithiase intrahépatique, héréditaire

### Résumé :

**Contexte:** Le séquençage nouvelle génération (NGS) permet d'effectuer un séquençage concomitant à haut débit de plusieurs gènes chez de nombreux patients. Cela devrait abaisser le temps des analyses chez les sujets ayant une cholestase ou lithiase intra-hépatique héréditaire. Les gènes étudiés codent des transporteurs et régulateurs des constituants de la bile. Le NGS pourrait aussi identifier l'implication de nouveaux gènes dans ces pathologies. **Objectifs de l'étude:** 1) Déterminer la faisabilité d'une stratégie NGS pour le dépistage des gènes impliqués dans les cholestases ou lithiases intra-hépatiques familiales (*ABCB4*, *ABCB11* et *ATP8B1*) et le syndrome de Dubin- Johnson (*ABCC2*); 2) Evaluer l'impact d'autres gènes codant des transporteurs du cholestérol (*ABCG5*, *ABCG8*) ou les récepteurs d'acides biliaires (*NR1H4*, *GPBAR1*). **Matériels et méthodes:** Les prélèvements de 288 patients (73% de femmes) non apparentés consécutifs ont été adressés à notre laboratoire pour génotypage des cholestases intra-hépatiques et/ou microlithiases de cholestérol héréditaires. Une stratégie de ciblage de l'ADN a été développée pour avoir un séquençage concomitant de 10 gènes chez 24 patients. L'ADN génomique a été extrait à partir de sang total. Chaque ADN fragmenté a été transformé en une banque d'ADNs après ligation à des adaptateurs oligonucléotidiques spécifiques de chaque patient. Des sondes des 154 exons des 10 gènes d'intérêt ont été conçues avec le logiciel Nimblegen. Des fragments de banques individuelles ont été ciblés par une double hybridation et amplifiés par une amplification solide en pont sur une puce dans le séquenceur moyen débit MiSeq. Puis, les clusters de la puce ont été séquencés en 20h. Le logiciel Sophia DDM a été utilisé pour analyser les données brutes (FastQ). L'analyse des variants annotés de portée clinique pathogénique, a été faite à partir des variants potentiels du logiciel Sophia DDM, du logiciel Alamut et des données bibliographiques. Une base anonyme 4D a été constituée. **Résultats :** Le nombre de séquences lues est près de 400 et la couverture à une profondeur de 100X est supérieure à 98%. La qualité des séquençages et leur robustesse sont données par un contrôle patient dont la reproductibilité est supérieure à 99,9%. La cohorte de patients mutés obtenue a été de 65/80 syndromes LPAC, 43/58 cholestases gravidiques, 45/55 cholestases sans lithiase, 33/55 lithiases intra-hépatiques non LPAC et 8/8 maladies de Dubin- Johnson. Ce sont des adultes de moins de 40 ans. L'impact d'un haplotype de variants polymorphes des gènes *ABCG5/ABCG8* était significatif dans les syndromes LPAC avec mutation du gène *ABCB4* ( $p \leq 0.05$ ). **Conclusion :** Le NGS offre une meilleure résolution des altérations génétiques des cholestases et cholélithiases héréditaires à moindre coût. Le NGS permet aussi d'obtenir de nouveaux génotypes associés significativement à nos pathologies.

**#2626 : Analyses phénotypique des LGM2C observée dans l'Est Algérien**

**Auteurs :**

Yamina Sifi (1), Imene Dalichaouche (2), Karima Sifi (3), Isabelle Richard (4), Nouredine Abadi (5), Abdelmadjid Hamri (1)

1. Neurologie, CHU Benbadis, Constantine, Algérie
2. Laboratoire de biologie cellulaire et moléculaire, département de, université Constantine, Constantine, Algérie
3. Laboratoire de biochimie, HU Benbadis de Constantine, Constantine, France
4. INSERM, U951, Evry, F-91002, France, Génomique, Paris, France
5. Laboratoire de biochimie, CHU Benbadis, Constantine, France

**Mots clefs :** LGMD2C, glycosaminoglycanopathies, glycosaminoglycane, gène SGCG, patients Algériens

**Résumé :**

**Introduction**

La LGMD2 C est une myopathie des ceintures secondaire à un déficit en glycosaminoglycane, protéine de 35-DAG. Elle semble particulièrement fréquente en Algérie. L'objectif de notre travail était de rapporter les aspects cliniques et génétiques des LGM2C observées dans l'Est Algérien.

**Patients et méthodes**

De 2013 à 2014 nous avons recruté 76 patients de phénotype LGMD2. La recherche de la mutation à effet fondateur, c.525delT (p.Phe175LeufsX20) dans le gène SGCG était systématiquement chez toutes les filles et chez les garçons sans mutations dans le gène de la dystrophine. L'étude génétique a été réalisée au laboratoire de biologie et de génétique moléculaire de la faculté de médecine université 3 de Constantine et à l'unité de recherche du département génétique de Paris. Le criblage moléculaire a été réalisé en amplifiant et séquençant le gène SGCG.

**Résultats**

Dix-neuf de nos patients étaient des LGMD2C, répartis en 10 garçons et 9 filles âgés en moyenne de 15, 3 ans. L'âge de début était de 5.9 ans. Douze patients ont perdu la marche à un âge moyen de 13.5 ans. Tous les patients ont débuté la maladie par un déficit des muscles proximaux des membres. L'hypertrophie des mollets était notée chez 18 patients, la macroglaxie chez 13 patients, l'atteinte respiratoire chez 5 patients. Aucun patient ne présentait d'atteinte cardiaque. L'altération mutationnelle c.521delT dans le gène SGCG a été retrouvée dans tous les cas.

**Discussion**

L'identification de la mutation del521T dans le gène SGCG a confirmé le diagnostic de LGMD2C chez tous nos patients et le phénotype de nos patients était Duchenne like dans tous les cas.

**Conclusion**

Nos résultats se rapprochent des données nationales et internationales actuellement disponibles sur les LGMD2C. Notre prochain objectif est d'établir des corrélations phénotype/génotype dans un échantillon plus grand.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

**#2628 : La maturation des ARNt mitochondriaux dans les cas pathologiques et non pathologiques : des mutations de GTPBP3 altèrent la traduction mitochondriale induisant une cardiomyopathie hypertrophique, une acidose lactique ainsi qu'une encephalie.**

### Auteurs :

Metodi Metodiev (1), Robert Kopajtich (2), Thomas J. Nicholls (3), Joanna Rorbach (4), Peter Freisinger (5), Hanna Mandel (6), Arnaud Vanlander (7), Daniele Ghezzi (8), Rosalba Carrozzo (9), Masakazu Kohda (10), Robert Taylor (11), Klaus Marquard (12), Kei Murayama (13), Thomas Wieland (14), Thomas Schwarzmayr (14), Johannes A. Mayr (15), Sarah F. Pearce (16), Christopher A. Powell (3), Ann Saada (17), Akira Ohtake (18), Federica Invernizzi (19), Eleonora Lamantea (19), Ewen W. Sommerville (20), Angela Pyle (21), Patrick Chinnery (22), Ellen Crushell (23), Yasushi Okazaki (24), Yoshihito Kishita (25), Yoshimi Tokuzawa (26), Zahra Assouline (27), Marlène Rio (27), François Feillet (28), Benedict Mousson de Camaret (29), Dominique Chretien (30), Arnold Munnich (31), Joël Smet (7), Luc Régal (32), Abraham Lorber (33), Asaad Khoury (34), Massimo Zeviani (3), Tim Strom (35), Thomas Meitinger (36), Enrico S. Bertini (37), Rudy Van Coster (7), Thomas Klopstock (38), Agnès Rötig (30), Tobias B. Haack (39), Michal Minczuk (3), Holger Prokisch (40)

1. , Institute IMAGINE, Paris, France
2. , Helmholtz Zentrum München, Munchen, Allemagne
3. , MRC Mitochondrial Biology Unit, Hills Road, Cambridge, Cambridge, Royaume Uni
4. , MRC Mitochondrial Biology Unit, Hills Road, Cambridge,, Cambridge,
5. , Department of Pediatrics, Klinikum Reutlingen, Reutlingen, Allemagne
6. , Metabolic Unit, Children's Hospital, Ramban Health Care Campus, Haifa, Israël
7. , Department of Pediatric Neurology and Metabolism, University Hospital Ghent, Ghent, Belgique
8. , Unit of Molecular Neurogenetics, Fondazione IRCCS , Millan, Italie
9. , Unità di Malattie Neuromuscolari e Neurodegenerative, Laboratorio di Medicina Molecolare, Dipartimento di Neuroscienze, Rome, Italie
10. , Department of Translational Research, Research Center for Genomic Medicine, Saitama Medical University,, Saitama, Japon
11. , Wellcome Trust Centre for Mitochondrial Research, Institute of Neuroscience,, Newcastle upon Tyne, Royaume Uni
12. , Department of Neuropediatrics, Klinikum Stuttgart, , Stuttgart, Allemagne
13. , Department of Metabolism, Chiba Children's Hospital,, Chiba, Japon
14. , Institute of Human Genetics, Technische Universität München, Muenchen, Allemagne
15. , Department of Pediatrics, Paracelsus Medical University Salzburg, Salzburg, Autriche
16. , MRC Mitochondrial Biology Unit, Hills Road, Cambridge, , Cambridge, Royaume Uni
17. , 1Monique and Jacques Roboh Department of Genetic Research and the Department of Genetics and metabolic Diseases., Hadassah-Hebrew University Medical Center , Jerusalem, Israël
18. , Department of Pediatrics, Faculty of Medicine, Saitama Medical University, Saitama, Japon
19. , Unit of Molecular Neurogenetics, Fondazione IRCCS , Milan, Italie
20. , 9Wellcome Trust Centre for Mitochondrial Research, Institute of Neuroscience, Newcastle University, Newcastle upon Tyne, Royaume Uni
21. , Wellcome Trust Centre for Mitochondrial Research, Institute of Genetic Medicine, Newcastle University,, Newcastle upon Tyne, Royaume Uni
22. , Wellcome Trust Centre for Mitochondrial Research, Institute of Genetic Medicine, Newcastle University,, Newcastle upon Tyne, France
23. , Metabolic Paediatrician, National Centre for Inherited Metabolic Disorders, Temple Street Childrens University Hospital, Dublin, Irlande
24. , Department of Functional Genomics & Systems Medicine, Research Center for Genomic Medicine, Saitama Medical University, Saitama, Japon
25. , Department of Functional Genomics & Systems Medicine, Research Center for Genomic Medicine, Saitama Medical University,, Saitama, Japon
26. , Department of Functional Genomics & Systems Medicine, Research Center for Genomic Medicine, Saitama Medical University, Saitama, Japon
27. , Departments of Pediatrics and Genetics, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
28. , Service de médecine infantile, Hôpital d'Enfants de Brabois, CHU de Nancy, Vandoeuvre-les Nancy, France
29. , Service des Maladies Héréditaires du Métabolisme, CHU de Lyon, Bron, France
30. , INSERM U1163, Université Paris Descartes-Sorbonne Paris Cité, Institut Imagine,, Paris, France
31. , INSERM U1163, Université Paris Descartes-Sorbonne Paris Cité, Institut Imagine, Paris, France
32. , Department of Pediatrics, Metabolic Center, University Hospital Leuven, Leuven, Belgique

33. , Department of Pediatric Cardiology, Ramban Medical Center, , Haifa, Israël
34. , Department of Pediatric Cardiology, Ramban Medical Center, Haifa, Israël
35. , Institute of Human Genetics, Helmholtz Zentrum München, German Research Center for Environmental Health,, Munchen, Allemagne
36. , DZHK (German Centre for Cardiovascular Research), partner site Munich, Munchen, Allemagne
37. , Unità di MalattieNeuromuscolari e Neurodegenerative, Laboratorio di Medicina Molecolare, Dipartimento di Neuroscienze, IRCCS OspedalePediatico Bambino Gesù, Roma, Italie
38. , German Research Center for Neurodegenerative Diseases (DZNE), Munchen, Allemagne
39. , Institute of Human Genetics, Helmholtz Zentrum München, German Research Center for Environmental Health, , Munchen, France
40. , Institute of Human Genetics, Helmholtz Zentrum München, German Research Center for Environmental Health, Munchen, Allemagne

**Mots clefs :** mitochondria, mitochondrial translation, GTPBP3, cardiomyopathy, encephalopathy, tRNA

**Résumé :**

Transcription of mitochondrial DNA produces two polycistronic precursors, which upon nucleolytic cleavage by the mt-RNaseP, RNaseZ and in some cases by a PTCD2-containing complex release the individual gene transcripts contained within them - 2 rRNAs, 22 tRNAs and 11 mRNAs. During transcription or shortly after, the nascent RNA transcripts are subjected to various modifications ensuring their stable folding and biological activity. Like in bacteria and the eukaryotic cytoplasm, mitochondrial tRNAs are heavily modified, including 3' CCA addition, nucleotide modifications and aminoacylation all of which are performed by nucleus-encoded mitochondrial enzymes. Mutations in genes encoding mitochondrial tRNA maturation enzymes can cause mitochondrial disease. We and others have identified mutations in several tRNA maturation enzymes as causative for mitochondrial dysfunctions. More recently, using whole exome sequencing and candidate gene sequencing, we identified eleven individuals from nine families which carry compound heterozygous or homozygous mutations in *GTPBP3*, encoding the mitochondrial GTP-binding protein 3. Affected individuals from eight out of nine families presented with combined respiratory chain complex deficiencies in skeletal muscle. All cases presented with lactic acidosis and nine developed hypertrophic cardiomyopathy. In contrast to individuals with mutations in *MTO1*, the protein product of which is predicted to participate in the generation of the same modification, most cases with *GTPBP3* mutations developed neurological symptoms and brain MRI anomalies of thalamus, putamen and brainstem resembling Leigh syndrome. We conclude that mutations in *GTPBP3* are associated with a severe mitochondrial translation defect, consistent with the predicted function of the protein in catalyzing the formation of 5-taurinomethyluridine ( $\tau\text{m}^5\text{U}$ ) in the anticodon wobble position of five mitochondrial tRNAs. Maturation of tRNAs is a complex process that has not been completely characterized in mammalian mitochondria. The increasing number of mitochondrial diseases caused by mutations in tRNA maturation enzymes, emphasize the importance of post-transcriptional modifications of mitochondrial tRNAs for proper mitochondrial function.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #2632 : Mutation analysis of AGXT gene and prevalence estimation of primary hyperoxaluria type 1 in Morocco

#### Auteurs :

Iamiaie boualla (1), Mariam Tajir (1), Najat Oulahiane (1), Jaber Lyahyai (1), fatimazohra Laarabi (1), Siham Chafai Elalaoui (1), Kenza Soulami (2), Hassan Aitouamar (1), Abdelaziz Sefiani (1)

1. , , Rabat, Maroc
2. , , casablanca, Maroc

**Mots clefs :** Primary hyperoxaluria type 1, AGXT gene, Morocco, diagnosis, prevalence.

#### Résumé :

**Introduction.** Primary hyperoxaluria (PH1) is an autosomal recessive disorder caused by deficiency of alanine glyoxylate aminotransferase, due to a defect in *AGXT* gene. Several mutations in this gene have been reported and some of them are recurrent in few populations. The aim of our study is to analyze, for the first time, the mutations causing PH1 in Moroccan patients and to estimate its prevalence in Morocco.

**Methods.** Molecular studies of 29 unrelated Moroccan patients with PH based on research of the mutations were performed by direct sequencing of all exons of the *AGXT* gene. Moreover, and to estimate the prevalence of PH1, we screened for the recurrent p.Ile244Thr mutation in 250 Moroccan unrelated newborns umbilical cords using real-time PCR.

**Results.** Four pathogenic mutations were detected in 25 unrelated patients. The c.731T > C, (p.Ile244Thr) was the most frequent mutation with a frequency of 84 %. Three others mutations have also been identified: c.33delC, c.976delG and c.331C > T. The prevalence of the primary hyperoxaluria type 1 in Morocco was then calculated to range from 1/7267 to 1/6264.

**Conclusion.** PH1 is one of the most prevalent genetic diseases in Moroccan population. It is probably low diagnosed. A genetic testing allowing diagnosis of PH1 in Morocco could be initiated, in the front line, by a low cost and non-invasive genetic testing for the search of the recurrent p.Ile244Thr mutation. This strategy would provide a useful tool for precocious diagnosis, presymptomatic individuals testing and to prevent rapid progression to renal failure.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #2645 : Génération par CRISPR de modèles murins de maladies génétiques

#### Auteurs :

Isabelle Richard (1), Céline Becker (2), Karine Charton (1), Laurence Suel (1), Sara F Henriques (1), Matteo Bovolenta (3), Jean-Paul Moussu (2), Karella Lipson-Ruffert (2), Miguel Taillepiere (2), Mathieu Ayassamy (2), Aude Queixalos (2), Catherine Cailleau (2), Jean-Pierre de Villartay (4)

1. INSERM U951, R&D department, INTEGRARE research unit, Généthon, Evry, France

2. SEAT-TAAM UPS-44 Phenomin , CNRS, Villejuif, France

3. Department of Life Sciences and Biotechnology Lab of Molecular Biology, University of Ferrara, Ferrara, France

4. INSERM UMR 1163, Laboratory of Genome Dynamics in the Immune System, Paris Descartes-Sorbonne Paris Cité University, Imagine Institute, Paris, France

**Mots clefs** : CRISPR, transgénése, souris, modèle murin, délétion exon, knock-out

#### Résumé :

Ces dernières années, la facilité d'utilisation et l'efficacité du système CRISPR/Cas ont fait de ce complexe un outil de choix pour l'édition du génome. De nombreux types de modifications génétiques, telles que KO, KI, délétions et mutations ont pu être obtenues sur une très grande diversité d'organismes modèles.

Plusieurs techniques ont été décrites dans la littérature pour injecter les guides et la Cas9. Au laboratoire, nous avons tout d'abord tenté de déléter un exon complet en injectant les ARNm de la Cas9 et de deux guides dirigés chacun contre une des extrémités de l'exon ciblé. Nous avons pu obtenir 32% de fondateurs, avec une transmission germinale de 43%.

Nous avons ensuite testé la création d'un KO par l'injection directe d'un plasmide codant à la fois pour la Cas9 et pour le guide. Nous avons obtenu 67% de fondateurs.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #2649 : Etude clinique et génétique de la maladie de Parkinson chez des patients Tunisiens

#### Auteurs :

Sawssan Ben Romdhan (1), chokri Mhiri (2), Suzanne Lesage (1)

1. , , Paris, France

2. , , Sfax, Tunisie

**Mots clefs :** Maladie Parkinson héréditaires, Capture ciblée, Séquençage de Nouvelle Génération

#### Résumé :

La maladie de Parkinson (MP) est une affection neurodégénérative progressive et invalidante et représente un problème majeur de santé publique aussi bien en Tunisie qu'en Europe.

Plusieurs gènes ont été identifiés comme responsables de la MP, parmi eux, les gènes codant pour SNCA, LRRK2, plutôt impliqués dans les formes autosomiques dominantes et la Parkine, PINK1, DJ-1 et ATP13A2, impliqués dans les formes autosomiques récessives.

L'objectif de cette étude est l'identification des bases moléculaires de MP dans la population tunisienne par analyse de loci/gènes connus et de faire des corrélations phénotype-génotype afin de mieux catégoriser sur le plan clinique les différentes entités de MP.

Une cohorte de 73 patients tunisiens dont 65 non apparentés et 4 fratries, a été séquencée et analysée à l'aide d'un kit de capture ciblée. L'âge moyen du début de la maladie est de  $56.67 \pm 11.03$  ans (extrêmes 16-74 ans) avec une prédominance d'hommes par rapport aux femmes (44:29).

Les échantillons sanguins et les données cliniques ont été collectés auprès du service de Neurologie de l'hôpital C.H.U. Habib Borguiba de Sfax avec consentement éclairé de chaque patient. L'extraction d'ADN a été réalisée à partir du sang total par la méthode standard de phénol-chloroforme. Le panel de cibles de captures correspondant aux exons des 24 gènes de la MP a été désigné par Roche-NimbleGen (SeqCap EZ). Le séquençage des patients a été réalisé sur le MiSeq (Illumina). L'alignement et la détection des variants ont été effectués grâce au logiciel Genomics Workbench (CLC bio).

Comme la mutation G2019S dans le gène LRRK2 représente plus de 40% des patients d'origine nord-africaine, tous les patients de la cohorte ont été criblés pour cette mutation, par la méthode de Taqman. Les résultats ont montré que, chez la population tunisienne, cette mutation ne représente que 10% cas.

Pour la NGS, les variants ont été filtrés et priorisés, puis vérifiés par séquençage Sanger chez les patients et leurs apparentés disponibles afin d'établir la ségrégation.

Trois nouvelles variations exoniques dans les gènes PINK1(NM\_032409: p.I128fs), EIF4G1 (NM\_001194946: p.N286H) et PARK7 (NM\_007262: p.A6G ) ont été identifiées chez des patients non apparentés. L'analyse de ces variations montre qu'elles ségrégent bien avec la MP.

Une autre variation au niveau d'un site d'épissage de l'exon 10 du gène VPS35 (NM\_018206:c.915-2insT) a été aussi identifiée chez 3 autres patients non apparentés. Cette variation crée un nouveau site cryptique provoquant l'insertion d'une base au niveau de l'ARN messenger mature.

Ces variations ont été identifiées chez des patients avec des âges de début de la maladie précoces (30-42) et ils représentent des signes cliniques très sévères.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #2654 : Etude des haplotypes (MP6D9, TUB9, TUB18) associés à la mutation F508del chez une population mucoviscidique

#### Auteurs :

CHAIMA SAHLI (1), Sondess HADJ FREDJ (1), Hajer SIALA (1), Khedija BOUSSETA (2), Ahmed MEHERZI (3), Taieb MESSAOUD (1)

1. laboratoire de biochimie et de biologie moléculaire , hôpital d'enfants Bechir Hamza Tunis , tunis, Tunisie
2. service de pédiatrie , hôpital d'enfants Bechir Hamza Tunis , tunis, Tunisie
3. service de pédiatrie , hôpital Mongi Slim de Marsa , tunis, Tunisie

**Mots clefs :** gène CFTR, F508del, haplotype, marqueurs extragéniques, population Tunisienne

#### Résumé :

Depuis la description du gène *CFTR* responsable de la mucoviscidose, plus de 1900 mutations ont été rapportées à travers le monde, le type et la fréquence de la mutation varie selon l'origine ethnique et géographique. L'étude des corrélations phénotype-génotype s'avère essentiel dans cette maladie multifactorielle afin de mieux comprendre son expression clinique. L'objectif de ce travail est d'étudier la répartition des haplotypes des marqueurs polymorphes extragéniques (MP6D9, TUB9 et TUB18) dans une population Tunisienne mucoviscidosiques ainsi que d'établir leur association avec la mutation la plus connue F508del. Notre étude a porté sur 112 enfants mucoviscidosiques et 100 sujets sains. L'analyse des variants a été réalisée par une PCR-RFLP. L'étude statistique a été menée d'une part le logiciel SPSS (version 20.0) pour le calcul des fréquences génotypiques et alléliques et d'autre part par le logiciel Arlequin3.1 pour la reconstruction des haplotypes à partir des génotypes.

L'analyse de la distribution génotypique de chaque polymorphisme montre une différence significative entre le groupe de contrôle et le groupe des patients. Par ailleurs, l'analyse des haplotypes chez la population malade a révélé l'existence de 8 haplotypes dont le plus fréquent est l'haplotype 211 (49.1%) alors que chez la population témoin, l'haplotype 121(30.5%) est le plus dominant. L'étude de l'association de la mutation F508del avec les différents haplotypes a révélé son association avec 7 haplotypes dont le plus fréquent est l'haplotype F508del-211 (60.86%).

Etant donné l'hétérogénéité phénotypique et génotypique de la mucoviscidose, plusieurs études ont cherché à mettre en évidence le rôle des marqueurs génétiques liés au gène *CFTR* dans l'expression et l'évolution de la maladie. Notre travail, portant sur l'intérêt des haplotypes des polymorphismes MP6D9, TUB9 et TUB18 du gène *CFTR*, constitue l'un des premiers travaux effectué dans la population Tunisienne et confirme l'utilité de ces marqueurs dans l'étude de l'origine du locus CFTR.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #2659 : A novel FAM20C mutation and follow up of two affected siblings with non lethal Raine syndrome

#### Auteurs :

Siham Chafai Elalaoui (1), Nada Al-Sheqaih (2), ilham ratbi (1), Mustapha Elalloussi (3), Jill. E Urquhart (2), James O'Sullivan (2), Simon B Williams (2), Sanjeev S Bhaskar (2), Jaber Lyahyai (1), Imane Cherkaoui Jaouad (4), Leila Sbihi (5), Abdelhafid Sbihi (6), William G Newman (2), Abdelaziz Sefiani (4)

1. 1 Centre de génomique humaine, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université Mohammed V Souissi,

Rabat, Morocco., 1 Centre de génomique humaine, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université Mohammed V Souissi, Rabat, Morocco., rabat, Maroc

2. 3 Manchester Centre for Genomic Medicine, St. Mary's Hospital, Manchester Academic Health Sciences Centre, Manchester M13 9WL, UK; Manchester Centre for Genomic Medicine, Institute of Human Development, University of Manchester, Manchester M13 9WL, UK., 3 Manchester Centre for Genomic Medicine, St. Mary's Hospital, Manchester Academic Health Sciences Centre, Manchester M13 9WL, UK; Manchester Centre for Genomic Medicine, Institute of Human Development, University of Manchester, Manchester M13 9WL, UK., Manchester, Royaume Uni

3. 4 Service d'odontologie pédiatrique, Faculté de médecine dentaire, Université Mohammed V, Rabat, Morocco,

4 Service d'odontologie pédiatrique, Faculté de médecine dentaire, Université Mohammed V, Rabat, Morocco, rabat, Maroc

4. 1 Centre de génomique humaine, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université Mohammed V Souissi,

Rabat, Morocco. 2 Département de Génétique Médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Morocco., 1 Centre

de génomique humaine, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université Mohammed V Souissi, Rabat,

Morocco. 2 Département de Génétique Médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Morocco., rabat, Maroc

5. 5 Service de Radiologie, Hopital Ibn Sina, Rabat, Morocco, 5 Service de Radiologie, Hopital Ibn Sina, Rabat,

Morocco, rabat, Maroc

6. 6 Cabinet de Radiologie de l'Agdal, Rabat, Morocco, 6 Cabinet de Radiologie de l'Agdal, Rabat, Morocco,

rabat, Maroc

**Mots clefs :** Raine syndrome, Novel mutation, FAM20C gene.

#### Résumé :

Raine syndrome [MIM # 259775] is a very rare autosomal recessive bone dysplasia characterized by amelogenesis imperfecta, hearing loss, characteristic face, seizures and generalized osteosclerosis. Originally, it was reported as a lethal syndrome, however recently less than ten families have been reported with affected children. The skeletal anomalies are more pronounced in the face giving the facial dysmorphism with depressed nasal bridge, short nose and underdeveloped midface. The osteosclerosis is the main radiologic finding with intracranial calcifications. The genetic background of Raine syndrome is homozygous mutations in *FAM20C* gene, located on chromosome 7p22.3. This gene is coding for a Golgi casein kinase, involved in biomineralisation.

We report here a consanguineous Moroccan family with two affected siblings (a girl aged of 18 years and a boy of 15 years) with Raine syndrome. Autozygosity mapping by Affymetrix SNP array v6.0 in the two affected siblings and one unaffected sibling identified a number of homozygous regions. Exome sequencing of one affected individual using Agilent Sure Select v5 on HiSeq2500 identified a novel mutation c.676T > A p.(Trp226Arg) in *FAM20C* gene.

This mutation was absent in control databases, ExAC, EVS and in our in-house database of 680 exomes. The mutation was predicted pathogenic by Polyphen2, Mutation Taster and SIFT.

Our patient is one of the oldest patients reported, and her clinical and radiological findings will give more information about the follow up and the management of the patients with non lethal Raine syndrome.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #2660 : Further evidence of POP1 mutations as the cause of anauxetic dysplasia

#### Auteurs :

Siham Chafai Elalaoui (1), Fatima Zohra Laarabi (2), Maria Mansouri (1), Nidal Alaoui Mrani (3), wiam smaili (1), Gen Nishimura (4), abdelaziz Sefiani (1)

1. 1 Centre de génomique humaine, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université Mohammed V Souissi, Rabat, Morocco. 2 Département de Génétique Médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Morocco., 1 Centre de génomique humaine, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université Mohammed V Souissi, Rabat, Morocco. 2 Département de Génétique Médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Morocco., rabat, Maroc  
2. 2 Département de Génétique Médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Morocco., 2 Département de Génétique Médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Morocco., rabat, Maroc  
3. 3 Service de Chirurgie pédiatrique, Hôpital d'Enfants, Rabat, Maroc., 3 Service de Chirurgie pédiatrique, Hôpital d'Enfants, Rabat, Maroc., rabat, Maroc  
4. 4 Department of Pediatric Imaging, Tokyo Metropolitan Children's Medical Center, Fuchu, Japan, 4 Department of Pediatric Imaging, Tokyo Metropolitan Children's Medical Center, Fuchu, Japan, Tokyo, Japon

**Mots clefs :** anauxetic dysplasia, POP1 gene, novel mutation.

#### Résumé :

Anauxetic dysplasia (AAD, OMIM 607095) is a rare skeletal dysplasia inherited as an autosomal recessive trait, which is caused by mutations in *RMRP* gene and allelic to a more common disorder, cartilage hair hypoplasia (CHH). CHH is a multi-system disorder with a variety of extraskelatal changes. Whereas AAD is a bone-restricted disorder with a more severe skeletal phenotype, affected individuals are extremely short and complicated by orthopedic morbidity. The radiological changes include modification of the vertebral bodies and epiphyseal dysplasia of the hip, as well as generalized metaphyseal dysplasia and severe brachydactyly resembling those of CHH. Recently, genetic heterogeneity for AAD was proposed, because a familial case (two affected sibs) with an AAD-identical phenotype had compound heterozygous mutations in *POP1*, encoding a molecule functionally related to the gene product of *RMRP*. We report here a consanguineous 5-year-old boy with the same phenotype. We identified a novel homozygous *POP1* mutation (c.1744C>T, p.P582S) in the boy and in heterozygosity state in the parents. It may be rational to coin the *POP1*-associated skeletal phenotype AAD type 2.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #2662 : Comparaison de 3 protocoles de séquençage haut débit des gènes F8 et F9 dans l'hémophilie A et B par Next-Generation Sequencing au CHU de Lille

#### Auteurs :

Fanny Lassalle (1), Antoine Rauch (2), Bénédicte Wibaut (1), Christine Vinciguerra (3), Mathilde Fretigny (3), Bertrand Vaast (2), Valérie Gomanne (1), Jenny Goudemand (2), Sophie Susen (2), Christophe Zawadzki (2)

1. Institut d'Hématologie-Transfusion, Centre Hospitalier Régional Universitaire de Lille, Lille, France
2. Institut d'Hématologie-Transfusion & Inserm UMR1011, Université de Lille, Institut Pasteur de Lille, EGID, Centre Hospitalier Régional Universitaire de Lille, Lille, France
3. Laboratoire d'Hémostase, Hôpital Edouard Herriot, Lyon, France

**Mots clefs :** hémophilie, séquençage, gènes F8 et F9, Next-Generation Sequencing

#### Résumé :

La méthode de référence d'étude des gènes *F8* et *F9* (hémophilie A (HA) et hémophilie B (HB)) est le séquençage de Sanger mais qui est chronophage et coûteux. Nous avons comparé 3 protocoles de séquençage de ces 2 gènes par *Next-Generation Sequencing* (NGS).

Nous avons développé un mini panel « maladies hémorragiques » contenant les exons et jonctions exons/introns des gènes *F8*, *F9* et *VWF*. Cent quatre patients HA et HB (62 déjà et 42 jamais génotypés auparavant) présentant des mutations non-sens, faux-sens, d'épissage, des petites insertions/délétions (Ins/Del) et des délétions/duplications d'exons (Copy Number Variation, CNV). Ces anomalies ont été étudiées par 3 stratégies analytiques différentes appelées S1, S2 et S3 et correspondant respectivement au kit de préparation de librairie AmpliSeq™ couplé au séquenceur IonPGM™ (*Life Technologies*™), au kit HaloPlex™ (*Agilent Technologies*™) couplé au IonProton™ (*Life Technologies*™) et au kit HaloPlex™ couplé au MiSeq™ (Illumina™). Les données ont été analysées avec le logiciel SeqNext™ (JCI Medical System™). Un ratio normalisé du nombre de read a été utilisé pour détecter les CNV avec S1.

L'indice Quality Value moyen était de 60 (risque d'erreur < 0.0001%) pour ces 3 protocoles. La couverture des exons des *F8* et *F9* par S1 était satisfaisante (Nombre Moyen de Read, NMR = 300) mais avec quelques « trous » de couverture pour S2 dans les exons 14 et 19 du *F8* (NMR=15000) et pour S3 dans l'exon 14 (NMR=1250).

L'anomalie causale était retrouvée correctement chez 89% des patients déjà génotypés par S1, 81% par S2 et 91% par S3. La détection des mutations faux-sens, non-sens et d'épissage était excellente pour les 3 méthodes (98, 98 et 100% des cas respectivement). Elle était mauvaise pour les Ins/Del des homopolymères de l'exon 14 du *F8* avec S1 et S2 (20% des cas) alors qu'elle était bonne avec S3 (100% des cas). Les Ins/Del situés dans les autres exons étaient correctement détectés pour S1 et S3 (88% des cas) mais détectés chez seulement 75% des cas pour S2.

Quatre délétions et une duplication d'exons initialement mises en évidence par MLPA (Multiplex Ligation-Probe Amplification) ont été retrouvées par S1. Une mutation est mise en évidence, avec la même efficacité par les 3 stratégies, chez 90% (38/42) des patients jamais génotypés (34 faux-sens, 2 non-sens et 2 d'épissage). Dix de ces mutations sont candidates et 7 sont probablement délétères. Une duplication des exons 10 à 14 a été détectée chez un HA sévère par S1. Aucune mutation n'a été mise en évidence chez 10% (4/42) des patients HA mineurs jamais génotypés.

Malgré une efficacité analytique comparable entre les 3 protocoles, nous avons une préférence pour la stratégie NGS HaloPlex™/MiSeq™ capable de bien détecter les homopolymères de l'exon 14 du *F8*. Ce protocole est aussi le moins onéreux car automatisé pour la préparation des librairies (gène *F8* : 298 vs 361 et 410€ et gène *F9* : 92 vs 111 et 126€, respectivement pour S3 vs S1 et S2).

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

**#2663 : Heimler syndrome is caused by unique hypomorphic mutations in the peroxisome biogenesis genes PEX1 and PEX6**

### Auteurs :

ilham ratbi (1), Kim Falkenberg (2), Manou Sommen (3), Nada Al-sheqaih (4), Soukaina Guaoua (1), Jill Urquhart (4), Kate Chandler (4), Simon Williams (4), Neil Roberts (4), Mustapha El Alloussi (5), Graeme Black (4), Hind Ramdi (5), Audrey Heimler (6), Alan Fryer (7), Marc Tischkowitz (8), Sally Davies (9), Abdelaziz Sefiani (10), Aleksandr Mironov (11), William Newman (4), Hans Waterham (2), Guy Van Camp (3)

1. Centre de Génomique Humaine, Faculté de Médecine et de Pharmacie , Université Mohammed V , Rabat, Maroc
2. Department of Clinical Chemistry, Laboratory Genetic Metabolic Diseases, Academic Medical Center, University of Amsterdam, Amsterdam, Pays-Bas
3. Department of Medical Genetics, University of Antwerp, Antwerp, Belgique
4. Manchester Centre for Genomic Medicine, St. Mary's Hospital, Manchester Academic Health Sciences Centre (MAHSC), Manchester, Royaume Uni
5. Département de pédodontie-prévention, Faculté de médecine dentaire, Université Mohammed V , Rabat, Maroc
6. Division of Human Genetics, Schneider Children's Hospital of Long Island Jewish Medical Center, New York, Etats-Unis
7. Department of Clinical Genetics, Alder Hey Children's Hospital, Liverpool, Royaume Uni
8. Department of Medical Genetics and National Institute for Health Research Cambridge Biomedical Research Centre, University of Cambridge, Cambridge, Royaume Uni
9. Institute of Medical Genetics, Cardiff University, Cardiff, Royaume Uni
10. Département de génétique médicale, Institut National d'Hygiène , Rabat, Maroc
11. Faculty of Life Sciences, University of Manchester, Manchester, Royaume Uni

**Mots clefs :** Amelogenesis imperfecta, hearing loss, Heimler syndrome, exome sequencing, peroxisome biogenesis disorder.

### Résumé :

Heimler syndrome (HS) is a rare recessive disorder characterized by sensorineural hearing loss (SNHL), amelogenesis imperfecta, nail abnormalities and occasional or late onset retinal pigmentation. We ascertained eight families with HS, and - using a whole exome sequencing approach - identified biallelic mutations in *PEX1* or *PEX6* in six of them. Loss of function mutations in both genes are known causes of a spectrum of autosomal recessive peroxisome biogenesis disorders (PBDs), including Zellweger syndrome. PBDs are characterized by leukodystrophy, hypotonia, SNHL, retinopathy, and skeletal, craniofacial, and liver abnormalities. We demonstrate that each HS family has at least one hypomorphic allele that results in extremely mild peroxisomal dysfunction. Although individuals with HS share some subtle clinical features found in PBDs, the overlap is minimal and the diagnosis was not suggested by routine blood and skin fibroblast analyses used to detect PBDs. In conclusion, our findings expand the pleiotropy associated with *PEX* mutations with a new syndrome.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

**#2665 : Détection de CNVs rares par séquençage d'exome chez 434 patients avec maladie d'Alzheimer Jeune et 587 contrôles.**

### Auteurs :

Kilan Le Guennec (1), Olivier Quenez (1), Gaël Nicolas (2), Camille Charbonnier (1), David Wallon (3), Celine Bellenguez (4), Benjamin Grenier-Boley (4), Stéphane Rousseau (1), Anne-Claire Richard (1), Delphine Bacq (5), Jean-Guillaume Garnier (5), Robert Olasso (5), Anne Boland (5), Vincent Meyer (5), Jean-François Deleuze (5), Philippe Amouyel (4), Hans Markus Munter (6), Guillaume Bourque (6), Mark Lathrop (6), Thierry Frébourg (7), Richard Redon (8), Luc Letenneur (9), Jean-François Dartigues (9), Emmanuelle Génin (10), Jean-Charles Lambert (4), Didier Hannequin (3), Dominique Campion (1), Anne Rovelet-Lecrux (1)

1. Inserm U1079, Centre Normand de Génotypage et de Médecine Personnalisée, CNR-MAJ, Université de Rouen, CHU de Rouen, Rouen, France

2. Inserm U1079, Centre Normand de Génotypage et de Médecine Personnalisée, CNR-MAJ, Service de Génétique, Université de Rouen, CHU de Rouen, Rouen, France

3. Inserm U1079, Centre Normand de Génotypage et de Médecine Personnalisée, CNR-MAJ, Service de Neurologie, Université de Rouen, CHU de Rouen, Rouen, France

4. Inserm U1167, Institut Pasteur de Lille, Université Lille-Nord de France, Lille, France

5. Centre National de Génotypage, Institut de Génomique, CEA, Evry, France

6. , McGill University and Genome Québec Innovation Centre, Montréal, Canada

7. Inserm U1079, Centre Normand de Génotypage et de Médecine Personnalisée, Service de Génétique, Université de Rouen, CHU de Rouen, Rouen, France

8. Inserm UMR 1087, l'institut du thorax et CNRS UMR 6291, CHU Nantes et Université de Nantes, Nantes, France

9. INSERM U897, Université de Bordeaux, Bordeaux, France

10. Inserm UMR1078, CHU Brest, Université Bretagne Occidentale, Brest, France

**Mots clefs :** Maladie d'Alzheimer ; variations du nombre de copies ; exome ; peptide  $\beta$ -amyloïde.

### Résumé :

Les variations structurales du génome humain (*Copy-Number Variations*, CNVs) contribuent au déterminisme génétique de la Maladie d'Alzheimer Jeune (MAJ, début avant 65 ans). En effet, les duplications du gène *APP* et les délétions de l'exon 9 du gène *PSEN1* sont responsables de rares formes autosomiques dominantes. D'autre part, des CNVs rares seraient impliqués dans le déterminisme génétique des formes complexes de la MAJ, qui sont majoritaires, mais leur contribution reste à déterminer. De tels remaniements sont classiquement détectés par SNP-array ou CGH-array qui ne permettent de détecter que des CNVs de grande taille ( $> 10$ kb). Le séquençage à haut débit permet de détecter des CNVs en utilisant des outils bioinformatiques spécifiques de développement récent. Nous avons réalisé le séquençage d'exome avec une profondeur moyenne de  $\sim 120\times$  chez 434 patients avec MAJ sans mutation dans les gènes connus et chez 587 contrôles issus du *French Exome Project*. Nous avons recherché des CNVs chez ces 1021 individus en utilisant le logiciel de détection de CNV CANOES, dont l'analyse repose principalement sur la profondeur de couverture, et nous avons pratiqué des validations extensives par QMPSF. L'identification des événements source de faux positifs nous a permis d'affiner le paramétrage du logiciel, permettant d'atteindre une spécificité finale de 92% (122/133 CNVs testés ont été confirmés par QMPSF). Les patients ne présentaient pas de charge plus importante en CNVs que les contrôles, que ce soit sur le nombre total de CNVs, ou sur des listes de (i) 5 610 gènes exprimés fortement dans le cerveau, (ii) 5 410 gènes faiblement exprimés dans le cerveau, et (iii) 3 catégories de gènes classés selon leur probabilité d'haploinsuffisance. En revanche, parmi 327 gènes constituant un réseau centré autour du peptide  $A\beta$ , dont l'agrégation est un élément clé dans la physiopathologie de la MA, nous avons détecté une tendance à l'enrichissement en nombre de CNVs chez les patients par rapport aux contrôles ( $p=0,07$ ) et cet enrichissement devenait significatif après restriction de l'analyse aux 198 patients avec antécédents familiaux de MA ( $p=0,03$ ), et très significatif lorsque l'analyse était restreinte aux remaniements dont l'effet prédit (perte/gain de fonction) est compatible avec leur rôle physiopathologique dans la MA ( $p=4\times 10^{-4}$ ). Nous avons, en particulier, détecté chez un patient une délétion emportant les exons 9 et 10 du gène *PSEN1*, qui n'a jamais été décrite et, chez 3 autres patients, une duplication emportant le gène *MAPT* codant pour la protéine Tau. En conclusion, ces travaux démontrent l'implication de différents types de CNVs dans la physiopathologie de la MA et illustrent l'intérêt en génomique du logiciel CANOES pour la détection des CNVs à partir de données de séquençage d'exome (spécificité  $> 90\%$ ) et de la stratégie d'analyse stratifiée par réseaux de gènes.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

#2666 : A propos d'une série de 7 cas avec syndrome d'Hermansky-Pudlak de type 5.

### Auteurs :

Vincent Michaud (1), Eulalie Lasseaux (1), Fanny Morice-Picard (2), Claudio Plaisant (1), Josseline Kaplan (3), Bart Leroy (4), Christian Hamel (5), Valérie Pelletier (6), Nursel Elcioglu (7), Patricia Fergelot (1), Didier Lacombe (1), Benoit Arveiler (1)

1. Service de Génétique Médicale, CHU Bordeaux, Bordeaux, France
2. Service de Dermatologie Pédiatrique, CHU Bordeaux, Bordeaux, France
3. Laboratoire de Génétique Moléculaire, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
4. Center for Medical Genetics, Ghent University Hospital, Gent, Belgique
5. Service d'Ophtalmologie, CHRU de Montpellier, Montpellier, France
6. Affections Rares en Génétique Ophtalmologique, CHU Strasbourg, Strasbourg, France
7. Departement of Pediatric Genetics, Marmara University Medical School, Istanbul, Turquie

**Mots clefs :** Syndrome d'Hermansky-Pudlak, HPS5, hypopigmentation, albinisme oculocutané syndromique,

### Résumé :

Le syndrome d'Hermansky-Pudlak (HPS) décrit pour la première fois en 1959 associe albinisme oculocutané, diathèse hémorragique et pour certaines formes fibrose pulmonaire et colite granulomateuse. 9 gènes sont connus comme étant impliqués dans cette pathologie et ont tous un rôle dans le transport et l'adressage de protéines des organelles associées aux lysosomes (LRO) notamment dans les mélanosomes et les granules denses plaquettaires. Le syndrome HPS de type 5 est décrit comme étant une forme plus modérée par rapport aux types 1 et 4 dans lesquels une surmortalité est liée aux complications pulmonaires. La protéine HPS5 a une fonction inconnue mais est associée au sein du complexe protéique BLOC-2 avec HPS3 et HPS6 pour la biogenèse des LRO. Les 7 patients ont été analysés par séquençage nouvelle génération sur un panel comprenant des gènes d'albinisme syndromique et non syndromique (*TYR*, *OCA2*, *TYRP1*, *SLC45A2*, *SLC24A5*, *GPR143*, *HPS1-6*). Dans cette série comprenant 3 adultes et 4 jeunes enfants, 5 patients sont issus d'une union consanguine. L'hypopigmentation est généralement modérée avec des cheveux allant du jaune au brun et une peau pâle à blanche avec tendance à pigmenter. L'atteinte ophtalmologique est très constante, cependant aucun signe pulmonaire ou digestif n'est rapporté. De manière intéressante, le patient le plus âgé de 68 ans est le seul à rapporter des ecchymoses faciles et l'examen dermatologique a retrouvé de multiples taches rubis. L'analyse moléculaire a permis de trouver 7 nouvelles mutations dont 3 mutations tronquantes homozygotes (c.1900delG/p.Glu634Serfs\*3, c.818\_822del/p.Thr273Lysfs\*7, c.1417C > T/p.Gln473\*) et une hétérozygote (c.2979\_2982del/p.Cys993Trpfs\*16), une délétion préservant le cadre de lecture (c.3096\_3098del/p.Leu1033del), une mutation faux-sens hétérozygote prédite comme pathogène (c.2219T > C/p.Leu740Ser) et une mutation synonyme homozygote affectant l'épissage (c.219G > A/p.=). Les fréquences de ces mutations ne sont pas décrites et n'ont pas été retrouvées sur plus de 400 patients présents dans notre base de données (Cartagenia Benchlab NGS). Pour 3 patients la ségrégation a pu être établie et était concordante. La description phénotypique de cette série est en accord avec les 9 autres cas publiés en ce qui concerne une forme modérée de la pathologie sans complication avec le plus vieux cas décrit ayant 92 ans. La synthèse de tous ces cas permet de mieux définir le phénotype lié aux mutations d'*HPS5*. Il est à noter que la présentation clinique est similaire pour les patients HPS3 et HPS6, les protéines impliquées étant associées au sein du même complexe. Il semble donc essentiel de réaliser l'analyse moléculaire de patients présentant des symptômes compatibles avec un HPS afin de mieux renseigner le patient sur son pronostic et d'adapter sa prise en charge. Il convient aussi d'envisager cette hypothèse diagnostique de forme modérée d'HPS dans le cas d'albinisme oculaire sans hypopigmentation franche.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

#2669 : Expérimentation de l'exome diagnostique au CHU de Nantes

### Auteurs :

Benjamin Cogné (1), Xenia Latypova (1), Sébastien Küry (1), Sébastien Schmitt (1), Thomas Besnard (1), Jessica Le Gall (1), Claire Beneteau (1), Sandra Mercier (1), Marie Vincent (1), Bertrand Isidor (1), Stéphane Bézieau (1)

1. Service de Génétique Médicale, CHU Nantes, Nantes, France

**Mots clefs :** exome,diagnostic,bio-informatique

### Résumé :

En génétique humaine, la plupart des variants pathologiques connus comme étant responsables de maladies monogéniques sont situés dans les régions exoniques du génome. En recherche, le séquençage haut-débit focalisé sur l'exome a permis d'identifier les causes moléculaires de nombreuses maladies rares. Néanmoins, son utilisation en routine pour le diagnostic reste encore expérimentale en raison d'une couverture non exhaustive de certains gènes faisant parfois préférer les recherches ciblées. L'analyse par exome peut cependant se montrer intéressante pour apporter un diagnostic moléculaire de manière rapide et peu coûteuse, notamment pour les maladies présentant une forte hétérogénéité génétique. En effet, l'augmentation rapide des capacités de séquençage permet aujourd'hui d'envisager l'exome pour un coût égal voire inférieur au séquençage capillaire d'un seul gène par la méthode de Sanger. Au CHU de Nantes, en considérant qu'il représente l'avenir à court terme des laboratoires de génétique, nous avons fait le choix d'expérimenter l'exome diagnostique. Sa mise en place représentant un changement important au sein des laboratoires de génétique, nous proposons, dans cette période charnière, de faire un bilan du début de cette activité en présentant nos choix concernant la sélection clinique des patients, le séquençage des échantillons, l'architecture informatique, l'analyse bio-informatique, l'interprétation biologique et le rendu des résultats. Les premiers diagnostics seront évoqués, en précisant les arguments ayant permis de les établir.

**#2674 : A systematic characterization of nearly 30 chronic pancreatitis-associated intronic variants in the SPINK1 gene**

**Auteurs :**

Wen-Bin ZOU (1), Arnaud Boulling (1), Emmanuelle Masson (1), Zhuan Liao (2), Zhaoshen Li (2), Jian-Min Chen (1), Claude Férec (1)

1. , , BREST, France
2. , , Shanghai, Chine

**Mots clefs :** SPINK1 gene; intronic variants; functional analysis

**Résumé :**

Over the past two decades, genetic variants have been increasingly reported to be associated with or cause chronic pancreatitis. However, to date, mutational analyses of the disease-causing or -predisposing genes (e.g. PRSS1, SPINK1, CTRC) have focused on the coding sequences and exon/intron boundaries. Given the certain presence of functional variants in deep intronic sequences, this practice might have accounted for a fraction of the “missing heritability” of chronic pancreatitis. Herein we first performed a pilot study using the SPINK1 gene as example. A subset of French patients with familial chronic pancreatitis participated in this study. All of these patients had previously been found not to carry a known disease-predisposing variant. The entire intronic sequence of the SPINK1 gene was analyzed by Sanger sequencing. Most of the > 10 resulting intronic variants were introduced into the pcDNA3.1/V5-His-TOPO vector harboring the entire SPINK1 gene by means of directed mutagenesis. The remaining intronic variants were introduced into the pcDNA3.1/V5-His-TOPO vector by means of amplifying the entire SPINK1 genomic sequence from respective carriers followed by molecular cloning. Although some of the variants were predicted to affect splicing by means of the Alamut software, RT-PCR analyses of the SPINK1 intronic variants in their respective transfected HEK293T cells invariably showed a single transcript with a size similar to that of the wild-type sequence. Sequencing of these PCR products and quantitative RT-PCR analyses of representative samples excluded possible subtle differences in terms of transcript sequence and expression level. Using the same method, we then went on to characterize all the currently reported SPINK1 intronic variants. Findings from this attempt may have implications for designing mutation screening strategies in clinical practice as well as for interpreting data obtained from next-generation sequencing.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

**#2678 : Identification de gènes candidats pour des encéphalopathies Rett-like par séquençage haut débit (exome et panel de gènes).**

### Auteurs :

Lila Allou (1), Daniel Amsallem (2), Sophie Julia (3), Julien Thevenon (4), Salima EL CHEHADEH (5), Laëtitia Lambert (6), Aline Saunier (7), Virginie Roth (8), Philippe Jonveaux (8), Christophe Philippe (8)

1. Development and disease group, Max Planck Institute for Molecular Genetics, Berlin, Allemagne
2. Service de pédiatrie 1, CHRU de Besançon - Hôpital Jean Minjoz, Besançon, France
3. Service de génétique médicale, Pôle de biologie, CHU de Toulouse - Hôpital Purpan, Toulouse, France
4. Centre de génétique, Pôle Pédiatrie, CHU de Dijon - Complexe du Bocage, Dijon, France
5. Génétique Médicale, CHU de Strasbourg - Hôpital de Hautepierre, Strasbourg, France
6. Service de Médecine Infantile et Génétique Clinique, Hôpital d'Enfants, CHU de Nancy - Hôpital de Brabois, Nancy, France
7. Laboratoire de génétique médicale, CHU de Nancy - Hôpital de Brabois, Nancy, France
8. Laboratoire de génétique médicale, CHU de Nancy - Hôpital de Brabois, Nancy, France

**Mots clefs :** Encéphalopathies Rett-like, exome, panel de gènes, gènes candidats, IQSEC2

### Résumé :

Le syndrome de Rett (RTT) est une encéphalopathie progressive d'origine génétique. La forme typique et les présentations variantes de ce syndrome sont des pathologies bien définies d'un point de vue clinique. Une clarification nosologique a été effectuée par les praticiens du groupe RettSearch, mettant en lumière l'importance de la régression neurologique et de l'infléchissement du périmètre crânien pour le diagnostic clinique de la forme typique de RTT. Des variations de séquence délétères du gène *MECP2* (*Methyl-CpG-Binding Protein 2*) ont été identifiées chez plus de 90% des patients avec un syndrome de Rett typique. Des critères consensus pour le diagnostic clinique des formes variantes de RTT ont également été établis. Les gènes *CDKL5* (*Cyclin-Dependent Kinase-Like 5*) et *FOXG1* (*Forkhead Box Protein G1*) ont été plus récemment impliqués dans les variants Hanefeld (épilepsie précoce) et Rolando (forme congénitale avec microcéphalie sévère), respectivement.

D'autres gènes (*MEF2C*, *TCF4*, *IQSEC2*, *SCN8A*, *SHANK3*, *PTPN4*) ont été associés à des encéphalopathies Rett-like. Au cours de ces dernières années, les approches de séquençage à haut débit ont facilité l'identification de gènes responsables, quand ils sont mutés, de maladies génétiques. Nous avons appliqué l'approche de séquençage haut débit pour étudier un panel 5 gènes impliqués dans l'étiologie moléculaire du RTT (*MECP2*, *CDKL5*, et *FOXG1*) ou associés à un phénotype Rett-like (*MEF2C* et *IQSEC2*). L'utilisation de ce panel en situation diagnostique a permis d'identifier l'étiologie moléculaire de la pathologie chez 10% (3/30) des enfants avec un syndrome de Rett variant (*FOXG1*: c.314del; p.Pro105Argfs\*87) ou une encéphalopathie Rett-like (*IQSEC2*: c.3322C>T; p.Gln1108\*; *CDKL5*: c.719G>C; p.Ser240Thr chez un enfant ne présentant pas d'épilepsie à 14 mois).

D'autre part, nous avons réalisé le séquençage d'exome chez deux patientes présentant un Rett atypique (analyse en trio enfant atteint/parents) et identifié des variations de séquence délétères dans deux nouveaux gènes candidats pour ces pathologies.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #2681 : Identification d'une nouvelle mutation confirmant l'implication du gène *IFT172* dans le Syndrome de Bardet-Biedl (BBS20)

#### Auteurs :

Elise Schaefer (1), Corinne Stoetzel (1), Jean Muller (2), Sophie Scheidecker (1), Véronique Geoffroy (1), Mégana K. Prasad (1), Claire Redin (3), Isabelle Missotte (4), Didier Lacombe (5), Jean-Louis Mandel (3), Hélène Dollfus (1)

1. Laboratoire de Génétique Médicale, Institut de Génétique Médicale d'Alsace, INSERM U1112, Fédération de Médecine Translationnelle de Strasbourg (FMTS), Université de Strasbourg, strasbourg, France
2. Laboratoire de Diagnostic Génétique, CHU Strasbourg, strasbourg, France
3. Département de Médecine translationnelle et Neurogénétique, IGBMC, CNRS UMR 7104/INSERM U964/Université de Strasbourg, Illkirch, France
4. Service de Pédiatrie, Centre Hospitalier de Nouvelle-Calédonie, Hôpital de Magenta, nouméa, France
5. Service de Génétique Médicale, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France

**Mots clefs :** Syndrome de Bardet-Biedl; *IFT172*; ciliopathie; polydactylie

#### Résumé :

Le Syndrome de Bardet-Biedl (BBS; MIM 209900) est une ciliopathie emblématique caractérisée par l'association d'une rétinopathie pigmentaire (RP) à une polydactylie post-axiale, une obésité de début précoce, un hypogonadisme, des anomalies rénales et des troubles cognitifs. Le BBS est un syndrome hétérogène tant sur le plan clinique que moléculaire. A ce jour, 20 gènes ont été identifiés dont la plupart code des protéines appartenant au BBSome, un complexe impliqué dans le trafic ciliaire, ou permettant son assemblage. Récemment 2 gènes impliqués dans le Transport Intra-Flagellaire (IFT) ont été rapportés dans le BBS, avec des mutations identifiées, pour chacun, dans une seule famille : *IFT27/BBS19* (Aldahmesh *et al.*, 2014) et *IFT172/BBS20* (Bujakowska *et al.*, 2015). Les gènes IFT code des protéines participant au transport antéro et/ou postérograde du cil primaire et sont principalement impliqués dans les ciliopathies avec atteinte squelettique prédominante. Ainsi, les premières mutations dans *IFT172* ont été rapportées dans deux ciliopathies squelettiques : le syndrome de Jeune et le syndrome de Mainzo-Saldino (Halbritter *et al.*, 2013). Plus récemment, des mutations ont été décrites dans 2 familles présentant une RP isolée ainsi que dans 1 famille avec un phénotype BBS-like (RP, obésité, troubles cognitifs, polydactylie postaxiale).

Nous rapportons l'observation d'une famille consanguine originaire de Mélanésie dont 2 des 5 enfants présentent un BBS avec 5 signes majeurs (RP, obésité, polydactylie postaxiale, troubles cognitifs et hypogonadisme) et sans mutation identifiée dans les gènes *BBS* connus au moment de l'étude. Une analyse par exome nous a permis d'identifier une mutation à l'état homozygote dans l'intron 40 du gène *IFT172* (NM\_015662.2: c.4428+3A > G). La ségrégation familiale était compatible avec un mode de transmission autosomique récessif. Cette mutation, non répertoriée dans les bases de données, était prédite pour affecter le site d'épissage. Des études complémentaires, réalisées à partir d'ARNm des patients, ont montré que cette mutation conduisait à un épissage alternatif avec une forme majoritaire sans exon 40 (délétion de 39 acides aminés en phase) et une forme minoritaire sans anomalie d'épissage. Sur le plan clinique, un patient présente une polydactylie pré-axiale au niveau d'un pied, symptôme rarement rapporté dans le BBS (un patient décrit sans diagnostic moléculaire). D'autres descriptions similaires sont nécessaires pour évoquer une éventuelle nouvelle corrélation génotype-phénotype.

En conclusion, nous rapportons la seconde mutation identifiée dans *IFT172* associée à un phénotype BBS validant ainsi *IFT172* comme le 20<sup>ème</sup> gène BBS. Alors qu'il était présumé que le BBS était uniquement lié à des anomalies en relation avec le BBSome, l'identification de mutations dans les gènes *IFT27* et *IFT172* chez des patients BBS a fait supposer que le transport intra-flagellaire pouvait être également impliqué, ce que confirme notre étude.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #2682 : Identification d'une large délétion de SNX10 dans une forme intermédiaire d'ostéopétrose

#### Auteurs :

Elise Schaefer (1), Caroline Michot (2), Michel Fischbach (3), Despina Moshous (4), Corinne Collet (5)

1. Service de Génétique Médicale, CHU Strasbourg, strasbourg, France
2. Service de Génétique, INSERM U781, Hôpital Necker-Enfants Malades, Institut Imagine, University Sorbonne-Paris-Cité, paris, France
3. Service de Pédiatrie 1, CHU Strasbourg, strasbourg, France
4. Unité d'Immunologie-Hématologie et Rhumatologie Pédiatrique, Centre d'Investigation Clinique intégré en Biothérapies, INSERM UMR1163, Hôpital Necker-Enfants Malades, Université Paris Descartes-Sorbonne Paris Cité, Institut Imagine, paris, France
5. UF de Génétique Moléculaire, Service de Biochimie et Biologie Moléculaire, Hôpital Lariboisière, paris, France

**Mots clefs** : ostéopétrose autosomique récessive; SNX10; délétion; variabilité phénotypique

#### Résumé :

L'ostéopétrose autosomique récessive (ARO) est liée à un défaut de formation et/ou de fonctionnement de l'ostéoclaste et caractérisée par une augmentation de la masse osseuse. Il s'agit d'un groupe de maladies hétérogène tant sur le plan moléculaire que clinique. A ce jour, 8 gènes sont identifiés dont 2 mutés préférentiellement : *TCIRG1* (50%) et *CLCN7* (15%). Les autres gènes sont chacun impliqués dans un petit pourcentage des cas d'ARO (1 à 6% selon le gène). Les premières mutations dans *SNX10* ont été rapportées en 2012 dans 3 familles consanguines palestiniennes (Aker *et al.*, 2012). 9 autres mutations ont été identifiées par la suite dans différentes ethnies (Mégarbané *et al.*, 2013 ; Pangrazio *et al.*, 2013). Le phénotype associé à *SNX10* est de sévérité variable mais l'ensemble des patients rapportés ont présenté des symptômes évocateurs dès les premiers mois de vie (dysmorphie faciale, obstruction des voies aériennes supérieures, troubles visuels, hépatosplénomégalie). De plus, tous ont développé une anémie plus ou moins précoce et une majorité d'entre eux des troubles neurologiques (hydrocéphalie, compression des nerfs optiques, auditifs et/ou faciaux).

Nous rapportons ici l'observation d'une jeune fille, 4<sup>ème</sup> enfant d'un couple apparenté d'origine turque, chez qui le diagnostic d'ostéopétrose de forme intermédiaire a été posé à l'âge de 10 ans sur des radiographies réalisées suite à 2 épisodes d'ostéomyélite montrant une augmentation diffuse de la densité osseuse. A l'examen clinique, la patiente ne présentait pas de dysmorphie faciale, pas d'hépatosplénomégalie, pas de retard de croissance ni de déficience intellectuelle. Différentes investigations ont montré l'absence d'atteinte médullaire, viscérale et neurologique. Cependant, la patiente a développé par la suite des douleurs osseuses résistantes aux antalgiques, sans fracture associée visible, et responsables d'une déscolarisation et d'une perte de la déambulation.

Une analyse par séquençage haut débit ciblé des gènes d'ARO (*TCIRG1*, *CLCN7*, *OSTM1*, *PLEKHM1*, *SNX10*, *TNFSF11*, *TNFRSF11A* et *TNFRSF11B*) n'a pas mis en évidence de variant pathogène. Une analyse par CGH-array réalisée secondairement à la recherche d'une anomalie du nombre de copies a permis d'identifier une délétion homozygote de 70kB en position 7p15.2, incluant partiellement *SNX10* (région promotrice et exon 1). Cette délétion n'est pas rapportée dans la base de données DECIPHER. L'analyse des apparentés par PCR quantitative a montré que les deux parents étaient hétérozygotes pour la délétion et que la fratrie saine était soit hétérozygote soit non porteuse.

En conclusion, nous rapportons la première délétion du gène *SNX10* chez une enfant présentant une ARO dans une forme intermédiaire. L'absence de signes pendant les premières années chez notre patiente élargit le spectre clinique des phénotypes liés à *SNX10* et laisse supposer que la fréquence de cette maladie pourrait être sous-estimée.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

#2686 : Rôle du gène AIRE dans les troubles auto-immuns des personnes porteuses de Trisomie 21

### Auteurs :

Kalthoum Magdoud (1), Viviana Granados (2), Claude Lambert (3), Claire Siterre (4), Agnès Combes (4), Guy Peyrard (4), Bénédicte de Fréminville (4), Dorra H'Mida Ben Brahim (5), Leila Ghedira (6), Emilie Roquand-Wagner (7), Françoise Devillard (8), Nabil Sakly (9), Renaud Touraine (10)

1. Immunologie, Faculté de Pharmacie, Monastir, Tunisie
2. Génétique, CHU-Hôpital Nord, Saint Etienne, France
3. Immunologie, CHU-Hôpital Nord, Saint Etienne, France
4. Génétique, CHU-Hôpital Nord, saint Etienne, France
5. Cytogénétique, CHU Farhat HACHED, Sousse, Tunisie
6. Pédiatrie, CHU Fattouma Bourguiba, Monastir, Tunisie
7. Génétique, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France
8. Génétique, Hôpital de la Tronche, Grenoble, France
9. Immunologie, CHU Fattouma Bourguiba, Monastir, Tunisie
10. Génétique, CHU-Hôpital Nord, SAINT ETIENNE cdx2, France

**Mots clefs :** Trisomie 21, immunité, AIRE, expression, SNP

### Résumé :

Les personnes porteuses de Trisomie 21 (T21) ont un risque augmenté de pathologie auto-immune tout au long de leur vie. Le gène *AIRE* a une grande importance dans l'éducation des thymocytes et l'élimination des clones du soi, et ce gène est localisé sur le chromosome 21. Une étude récente a montré une baisse d'expression de *AIRE* dans le thymus d'enfants T21.

Nous avons souhaité étudier ce gène dans une population de personnes T21 avec ou sans pathologie auto-immune.

**Matériels et méthodes :** Personnes recrutées en Tunisie et en France : 40 témoins et 68 T21 dont 32 avec problème dysimmunitaire. Séquençage des parties codantes et des jonctions introniques des gènes *AIRE* et *RCAN1*. Mesure de l'expression de *AIRE* par RT-PCR quantitative dans les lymphocytes T et les lymphocytes B, comparée à un gène de contrôle.

**Résultats :** Aucune mutation n'a été identifiée. Nous avons retrouvé plusieurs SNP déjà connus. Un SNP intronique de *AIRE* et un SNP neutre dans l'exon 4 de *RCAN1* semblent plus fréquents en l'absence de trouble auto-immuns. Lorsque les 2 SNPs sont pris en compte, la présence d'au moins un allèle mineur est plus fréquente chez les T21 sans auto-immunité, même après correction de Bonferroni ( $p < 0,05$ ).

Par RT-PCR en temps réel, l'expression de *AIRE* est mesurée faible mais présente chez les contrôles non trisomiques, elle est encore plus faible en cas de T21, tant dans les lymphocytes T que les lymphocytes B. Il n'y a pas de différence d'expression entre les lymphocytes T des 2 groupes de personnes T21. Par contre dans les lymphocytes B l'expression est encore plus basse en cas de pathologie auto-immune ( $p < 0,05$ ). Cette différence est plus marquée chez les personnes qui ne présentent pas au moins 1 allèle mineur du SNP de *AIRE*.

Nous avons donc identifié sur cette petite population un SNP du gène *AIRE* dont la présence paraît en partie protectrice du développement de pathologie auto-immune chez les personnes T21 et corrélée avec une meilleure expression de ce gène dans les lymphocytes B. Notre étude est donc en faveur d'une implication de *AIRE* dans les pathologies auto-immunes chez les personnes T21.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

**#2690 : Bilan de l'étude moléculaire réalisée pour 1369 familles de sclérose tubéreuse de Bourneville**

### Auteurs :

Marie Claire Malinge (1), Estelle Colin (1), Agnes Guichet (1), Séverine Manceau (1), Carine Repussard (1), Sarah Prestwich (1), Béatrice Vary (1), Denis Farges (2), Christophe Verny (3), Dominique Bonneau (1)

1. Département de Biochimie Génétique, CHU Angers, Angers, France
2. Service de Neuropédiatrie, CHU Angers, Angers, France
3. Service de Neurologie, CHU Angers, Angers, France

**Mots clefs :** Sclérose tubéreuse de Bourneville Gènes TSC1 et TSC2 Mutation

### Résumé :

La sclérose tubéreuse de Bourneville (STB) est une maladie génétique autosomique dominante due à des mutations dans deux gènes suppresseurs de tumeurs TSC1 (9q34) et TSC2 (16p13) codant respectivement pour l'hamartine et la tubérine. Il s'agit d'une affection touchant de nombreux organes (cerveau, peau, rein, cœur...) avec une grande hétérogénéité clinique.

#### Patients et méthodes

Cette étude porte sur 1369 patients atteints de STB vus en consultation au CHU d'Angers ou provenant de 86 centres français et de 6 centres étrangers (Coimbra, Bern, Lausanne, Genève, Liège et Tunis). Il s'agit de 329 cas sporadiques, de 221 cas familiaux et pour 819 cas, le mode de transmission où le caractère de novo n'a pas pu être déterminé car l'un ou les 2 parents n'ont pas été étudiés. Seuls les cas index ont été retenus dans les formes familiales. Les cas découverts en prénatal n'ont pas été inclus dans cette cohorte.

La recherche et l'identification des mutations ont été effectuées à partir de prélèvements de sang veineux par DHPLC puis séquençage des exons à tracé modifié pour les gènes TSC1 et TSC2. La recherche de grandes délétions a été réalisée par la technique MLPA (MRC Holland).

#### Résultats et discussion

Le taux de détection des mutations dans les gènes TSC1 et TSC2 est de 66% (n=904). Les mutations de TSC1 représentent 31.4% et celles de TSC2 68.6%. Aucune mutation n'a été mise en évidence pour 465 cas index. Des mosaïques somatiques ont été mises en évidence chez 45 proposant atteints soit pour 5% des cas index.

L'identification de la mutation pour les cas index, nous a amenés à effectuer 210 DPN et 41 fœtus possédaient la mutation.

Les données cliniques détenues à ce jour pour cette cohorte devront être complétées car pour de nombreux sujets, les renseignements qui nous ont été transmis au moment du diagnostic moléculaire par les cliniciens sont incomplets et parfois absents. Les signes cliniques les plus fréquents sont les signes cutanés: taches achromiques (52.1%; n=713), peau de chagrin (12.8%; n=175), angiofibromes faciaux (34.4%; n=471), tumeurs de Koenen (15.9%; n=218).

Les signes neurologiques se répartissent ainsi: épilepsie (44.3%; n=606), retard mental (24.2%; n=331), troubles du comportement (11.8%; n=162), présence de tubers corticaux (37.5%; n=513), de nodules sous épendymaires (26.5%; n=362), tumeurs cérébrales (6.1%; n=83). Les manifestations rénales sont aussi relativement fréquentes: angiomyolipomes (25.4%; n=348), kystes (14.3%; n=195) et tumeurs (0.2%; n=3).

Des tumeurs cardiaques ont été détectées pour 225 patients (16.4%), des hamartomes rétinien chez 62 patients (4.5%), une hypertrophie gingivale chez 52 patients (3.8%), des pits dentaires chez 20 patients (1.5%), des hamartomes hépatiques chez 27 patients (2%), et des signes pulmonaires observées dans 78 cas (5.7%).

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

#2691 : New genes and mechanisms in arthrogryposis multiplex congenita and reduced fetal mobility

### Auteurs :

J Maluenda (1), A Laquerriere (2), Dan Mejlachowicz (1), f Nolent (3), J Melki (4)

1. , , Bicêtre, France
2. , , Rouen, France
3. , , BICETRE, France
4. , , Le Kremlin Bicetre, France

**Mots clefs** : arthrogryposis, akinesia, exome sequencing, node of Ranvier, imprinting

### Résumé :

#### New genes and mechanisms in arthrogryposis multiplex congenita and reduced fetal mobility

Maluenda J<sup>1</sup>, Nolent F<sup>1</sup>, Mejlachowicz D<sup>1</sup>, et al.

*La liste complète des auteurs et leurs affiliations seront présentées lors du congrès*

Non-syndromic arthrogryposis multiplex congenita (AMC) is characterized by multiple congenital contractures resulting from reduced fetal mobility. Whole exome sequencing (WES) was performed in 80 undiagnosed AMC families. Although this approach identified known AMC genes, we identified pathogenic mutations in new genes including *CNTNAP1*, *ADCY6*, *GPR126*, *LMOD3* and *MAGEL2*. *CNTNAP1* encodes CASPR, an essential component of node of Ranvier domains which underly saltatory conduction of action potentials along myelinated axons, an important process for neuronal function. *GPR126* drives the differentiation of promyelinating Schwann cells by elevating cAMP levels and *ADCY6* encodes an adenylate cyclase that synthesizes cAMP, suggesting that a role for *ADCY6* in activating the *GPR126*-cAMP pathway. These data indicate that mutations of genes encoding proteins of Ranvier domains assembly or involved in myelination of Schwann cells are responsible for novel and severe human axoglial diseases. *MAGEL2* is one of the paternally expressed genes within the Prader-Willi syndrome (PWS) locus. PWS is associated with, to varying extents, reduced fetal mobility, severe infantile hypotonia, childhood-onset obesity, hypogonadism, and intellectual disability. *MAGEL2* mutations have been recently reported in affected individuals with intellectual disability or autism. Our data indicate that *MAGEL2* mutations may recapitulate the clinical spectrum of PWS suggesting that *MAGEL2* is a PWS-determining gene. Two additional new genes are currently characterized. Targeted exome sequencing (TES) was then set up including a total of 70 genes in which mutations have been identified in AMC, reduced fetal mobility including those recently identified, new candidate genes or in conditions mimicking AMC. A total of 103 patients have been analyzed using TES. A critical comparative analysis of both approaches will be presented underlying the advantages and limits of both strategies.

Supported by the national PHRC, AFM, Alliance Arthrogrypose, Université Paris-Saclay and Inserm.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #2699 : Utilisation conjointe de tests *in silico* et *in vitro* pour l'identification de mutations du gène F8 affectant l'épissage

#### Auteurs :

YOHANN JOURDY (1), CHRISTOPHE NOUGIER (1), MATHILDE FRETIGNY (2), CLAUDE NEGRIER (3), CHRISTINE VINCIGUERRA (3), DOMINIQUE BOZON (1)

1. , , Lyon, France
2. , , Array, France
3. Array, Array, Array,

**Mots clefs :** Hémophilie A, Mutations d'épissage, Minigène

#### Résumé :

##### Introduction:

L'hémophilie A est une maladie hémorragique à transmission liée à l'X causée par des mutations du gène *F8*. 7,5% des mutations trouvées chez les hémophiles A sont classées comme ayant un impact potentiel sur l'épissage des transcrits du gène *F8*. La démonstration de la pathogénicité de ces mutations est réalisée en étudiant l'ARNm du patient s'il est disponible ; sinon une étude combinant des tests *in silico* et *in vitro* (vecteur minigène) peut être réalisée.

##### Objectifs:

Dans ce travail, nous avons étudié l'impact fonctionnel, *in silico* et *in vitro*, sur l'épissage de 5 variations du gène *F8*: c.240C>T (p.Ile80Ile), c.1009G>A (p.Asp337Asn), 1752G>A (p.Gln584Gln), c.5586G>A (p.Leu1862Leu) et c.6066C>T (p.Gly2003Gly) identifiées chez des hémophiles A mineurs.

##### Matériel et méthodes:

Une étude *in silico* de l'impact potentiel sur l'épissage de chaque mutation a été réalisée à l'aide de 4 algorithmes de prédiction (Splice site finder like, MaxEntScan, NNSPLICE, Human splicing finder) disponible sur Alamut 2.6.0 (Interactive Biosoftware).

Pour l'étude *in vitro*, 2 minigènes contenant l'exon d'intérêt et ses jonctions introniques ont été construits pour chaque mutation: un sauvage et un muté. Des cellules HeLa ont ensuite été transfectées avec les différentes constructions puis les ARNm ont été extraits 48h après et étudiés par RT-PCR et séquençage.

##### Résultats:

Les mutations c.1009G>A, 1752G>A et c.5586G>A affectent respectivement le dernier nucléotide des exons 7, 11 et 16 du gène *F8*. L'étude *in silico* est en faveur d'une baisse importante de la force du site donneur pour les mutations c.1009G>A et c.5586G>A. L'étude des transcrits après transfection des cellules HeLa a montré la coexistence de transcrits normaux et aberrants pour ces deux mutations. Par contre, les analyses *in silico* et *in vitro* n'ont pas mis évidence d'effet délétère de la mutation c.1752G>A sur l'épissage de l'exon 11 du gène *F8*.

Les variations c.240C>T et c.6066C>T sont des mutations synonymes situées respectivement dans les exons 2 et 19 du gène *F8*. Les analyses *in silico* et *in vitro* n'ont pas mis évidence d'effet délétère de la mutation c.240C>T sur l'épissage de l'exon 2 du gène *F8*. L'analyse *in silico* de la mutation c.6066C>T montre la création d'un site donneur cryptique en c.6064 de force équivalente ou supérieure au site donneur naturel. L'étude *in vitro* a montré la coexistence de deux transcrits majoritaires, l'un correspondant au transcrit normal et l'autre correspondant à l'utilisation du site cryptique c.6064.

##### Conclusion:

Parmi les 5 mutations étudiées dans ce travail, 3 mutations (c.1009G>A et c.5586G>A et c.6066C>T) ont un impact délétère sur l'épissage du gène *F8* et semblent donc impliquées dans le phénotype hémorragique observé chez les patients.

Les mutations c.240C>T et c.1752G>A ne perturbent pas l'épissage. La recherche d'une autre anomalie génique non détectée par les techniques classiques de biologie moléculaire doit être effectuée chez ces patients.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #2707 : Homozygotie et hétérozygotie composite dans le gène *FBN1* : cas particuliers du diagnostic moléculaire du syndrome de Marfan

#### Auteurs :

Pauline ARNAUD (1), Nadine HANNA (1), Mélodie AUBART (2), Bruno LEHEUP (3), Sophie DUPUIS-GIROD (4), Marie-Ange DELRUE (5), Didier LACOMBE (5), Olivier MILLERON (6), Maud LANGEAIS (6), Myrtille SPENTCHIAN (6), Laurent GOUYA (6), Guillaume JONDEAU (6), Catherine BOILEAU (1)

1. Département de Génétique, Hôpital Bichat, AP-HP, PARIS, France
2. Equipe 2 Inserm U1148, Hôpital Bichat, PARIS, France
3. Service de Génétique Clinique, CHU Nancy, Hôpital de Brabois, VANDOEUVRE-LES-NANCY, France
4. Service de Génétique Clinique, HCL-GHE, Hôpital Femme-Mère-Enfant, BRON, France
5. Service de Génétique Médicale, CHU Bordeaux, GH Pellegrin, BORDEAUX, France
6. Centre National Maladies Rares, Syndrome de Marfan et apparentés, Hôpital Bichat, AP-HP, PARIS, France

**Mots clefs :** Syndrome de Marfan, Homozygotie, Hétérozygotie composite, Physiopathologie, Diagnostic moléculaire

#### Résumé :

Le syndrome de Marfan (MFS, [MIM#154700]) est une maladie génétique transmise selon un mode autosomique dominant, avec une prévalence de 1 pour 5000 individus. Les patients présentent une atteinte multisystémique, touchant les systèmes cardiovasculaire, oculaire et squelettique. Les complications les plus graves proviennent de l'atteinte cardiovasculaire avec l'anévrisme de l'aorte ascendante ou la dissection aortique. Dans le syndrome de Marfan, le principal gène causal est le gène *FBN1* codant pour la fibrilline-1, qui est une protéine de la matrice extracellulaire. Les mutations hétérozygotes sont situées tout le long du gène, sans association phénotypique, à l'exception de la région néonatale située entre les exons 24 et 32, qui concentrent des mutations retrouvées dans des cas sévères de syndrome de Marfan néonatal. Quatre cas d'homozygotie et trois cas d'hétérozygotie composite dans le gène *FBN1* sont décrits dans la littérature, tous sont associés à des signes cliniques graves. Nous rapportons huit nouveaux cas de mutations homozygotes et hétérozygotes composites dans huit familles françaises. Ces patients font partie des 2400 proposants adressés au laboratoire de Génétique de l'Hôpital Bichat pour un diagnostic moléculaire de syndrome de Marfan. Un séquençage bidirectionnel des 65 exons du gène *FBN1* a été réalisé et l'origine parentale des mutations a été étudiée quand cela était possible. Les trois proposants porteurs de mutations homozygotes (c.2513T > C – p.Leu838Ser, c.6998A > G – p.Asp2333Gly et c.7999G > A – p.Glu2667Lys) appartiennent à trois familles consanguines originaires d'Afrique du Nord. L'ensemble des sept mutations homozygotes issues de notre cohorte et des publications précédentes a mis en évidence un cluster en 3' du gène *FBN1* (entre les exons 57 et 63). En parallèle, 21 proposants sont porteurs de deux mutations dans le gène *FBN1* et des études familiales ont permis d'affirmer une hétérozygotie composite chez cinq individus. Une évaluation clinique complète des huit sujets rapportés a été réalisée selon les critères de Ghent. L'âge moyen de diagnostic était de 30 ans (de 8 à 53 ans). Tous ces individus présentaient une forme classique de syndrome de Marfan. Aucun d'entre eux ne présentait une forme très sévère de la maladie par rapport à des individus avec une mutation hétérozygote dans le gène *FBN1*. Cette observation issue de la cohorte française de proposants porteurs de mutations dans le gène *FBN1* va en l'encontre des signes cliniques très sévères rapportés dans la littérature chez quatre sujets homozygotes et trois sujets hétérozygotes composites. L'homozygotie et l'hétérozygotie composite sont des événements rares (moins de 1% dans la cohorte française) dans le diagnostic moléculaire du syndrome de Marfan mais cela ne doit pas être négligé, notamment dans les familles consanguines. Il est difficile de prévoir la sévérité de l'atteinte dans ces cas particuliers.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #2709 : Interactions génétiques gouvernant le développement du système nerveux entérique : rôle de la triade SOX10/ZEB2/EDN3

#### Auteurs :

Yuli Watanabe (1), laure Stanchina (2), Laure Lecerf (3), Viviane Baral (1), Veronique Pingault (4), Danny Huylebroeck (5), Nadege Bondurand (3)

1. , INSERM U955, IMRB, Equipe 6, Créteil; Université Paris Est, Faculté de Médecine, Créteil, creteil, France
2. , INSERM U955, IMRB, Equipe 6, Créteil; adresse actuelle : Centre d'Etude des Cellules Souches (CECS), I-Stem, AFM, Evry, Evry, France
3. , INSERM U955, IMRB, Equipe 6, Créteil; Université Paris Est, Faculté de Médecine, Créteil, Creteil, France
4. , INSERM U955, IMRB, Equipe 6, Créteil; adresse actuelle : Institut Imagine, INSERM UMR 1163 Embryologie et génétique des malformations, Creteil, France
5. , 5Department of Cell Biology, Erasmus MC, Rotterdam, The Netherlands, Rotterdam, Pays-Bas

**Mots clefs :** modèles murins, neurocristopathies, système nerveux enterique

#### Résumé :

La maladie de Hirschsprung est une maladie génétique rare et complexe qui se caractérise par une anomalie de la motricité recto-intestinale, due à une absence des cellules ganglionnaires du système nerveux entérique affectant la partie distale de l'intestin, ce sur une longueur variable. Retrouvée sous forme isolée ou syndromique, cette maladie résulte d'un défaut de migration, différenciation, prolifération ou survie des progéniteurs entériques dérivés de la crête neurale. A l'heure actuelle une douzaine de gènes ont été impliqués, dont la voie de signalisation de l'endothéline-3 et son récepteur à sept domaines transmembranaire EDNRB, et les deux facteurs de transcription SOX10 et ZEB2.

Afin de comprendre l'origine des anomalies entériques observées chez les patients nous avons, depuis 10 ans, mis en place des projets visant à comprendre le rôle de chacun de ces facteurs et leurs interactions au cours du développement par des approches combinant l'analyse phénotypique de doubles mutants murins, l'utilisation d'un système de culture de progéniteurs entériques dont on peut suivre le devenir *in vitro* et des études de régulation génique. Le rôle de SOX10 et de l'endothéline-3 sont maintenant bien établis et nous avons montré que des interactions entre *Sox10* et *Zeb2* ou la voie de signalisation EDN3/EDNRB sont indispensables à la survie des cellules de crête neurale entérique et à leur différenciation. Toutefois le rôle de ZEB2, tant au plan cellulaire que moléculaire restait à définir.

L'étude de doubles mutants murins *Zeb2-Edn3* et *Zeb2-Ednrb* nous a permis de mettre en évidence une interaction entre ces trois gènes. En effet, le phénotype entérique des doubles mutants est aggravé en comparaison des simples mutants. Des études de régulation génique, couplées à la culture de progéniteurs entériques normaux ou *Zeb2* mutants en présence ou absence d'endothéline-3, nous ont aidés à démontrer la régulation de l'expression de *Ednrb* par les deux facteurs de transcription SOX10 et ZEB2 et le rôle crucial de la triade « SOX10-ZEB2-EDN3 » dans le contrôle de la différenciation des cellules de crête entérique. L'ensemble des résultats obtenus nous permet d'intégrer ZEB2 dans le réseau des interactions génétiques gouvernant le développement du système nerveux entérique et de mieux comprendre les bases cellulaires de la maladie.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

**#2718 : Une mutation faux-sens dans un gène VPS du trafic membranaire induit une ciliopathie en inhibant le transport golgi - cil IFT20 dépendant**

### Auteurs :

Séverine Bar (1), Corinne Stoetzel (2), Johan-Owen De Craene (1), Sophie Scheidecker (3), Véronique Geoffroy (2), Kirsley Chennen (2), Sylvie Friant (1)

1. GMGM UMR7156, CNRS - Université de Strasbourg, Strasbourg, France
2. INSERM U1112, Medical Genetics Laboratory, University of Strasbourg, Institute of Medical Genetics of Alsace, Strasbourg, France
3. INSERM U1112, Medical Genetics Laboratory, University of Strasbourg, Institute of Medical Genetics of Alsace, Centre de Référence pour les affections rares en génétique ophtalmologique, Strasbourg, France

**Mots clefs :** vps, ciliopathy, trafficking, golgi transport, IFT20

### Résumé :

A missense mutation in a VPS gene was identified in three members of a single family presenting ciliopathy like symptoms. After staining with an antibody directed against acetylated tubulin, primary fibroblasts obtained from the patients and deprived of serum for 24h showed a decreased primary cilium length compared to control fibroblasts indicating that the disease observed is indeed a ciliopathy.

To investigate which cellular pathway is impaired by the mutation in the VPS gene, a yeast model was used. The human wild type or mutant VPS gene was expressed in vpsD deletion mutant yeast cells and the effect on various intracellular processes was analysed. A dominant-negative Golgi to vacuole trafficking defect was observed in cells expressing the patient mutant form suggesting that the VPS mutation leads to a ciliopathy via a trafficking defect.

This hypothesis was tested and we could show that 1) the VPS protein localises to the Golgi and interacts with the cis-Golgi protein GM130 in control and patient fibroblasts and 2) IFT20 dependent trafficking from the Golgi to the primary cilium is impaired in the patient cells.

From the results presented here and others not shown, we assume that this VPS protein is involved in IFT20 vesicle formation and/or release at the level of the cis-Golgi.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #2719 : Confirmation de l'implication de LARP7 dans le nanisme primordial type Alazami : une seconde famille

#### Auteurs :

Marjolaine WILLEMS (1), Frederic TRAN MAU THEM (1), Claire Jeandel (2), Jean-Baptiste Riviere (3), Manon Girard (1), Bernard Echenne (4), Elodie Sanchez (5), David Genevieve (1)

1. Génétique Médicale, CHRU de Montpellier, Montpellier, France
2. Endocrinologie Pédiatrique, CHRU de Montpellier, Montpellier, France
3. Génétique Médicale, CHU de Dijon, Dijon, France
4. Neurologie Pédiatrique, CHRU de Montpellier, Montpellier, France
5. Unité INSERM U1183, CHRU de Montpellier, Montpellier, France

**Mots clefs :** nanisme primordial, LARP7, Rett,

#### Résumé :

Les nanismes primordiaux incluent des pathologies extrêmement diverses cliniquement et génétiquement, toutes caractérisées par un retard de croissance sévère pré et postnatal associé à une microcéphalie. En 2012 des mutations à l'état homozygote de LARP7 (OMIM 612026) étaient identifiées dans une famille consanguine multiplex d'origine Saoudienne présentant un nanisme caractérisé par un déficit intellectuel sévère et des particularités morphologiques similaires, permettant de décrire le nanisme de type Alazami (OMIM 615071). LARP7 est une chaperonne de 7SK, un ARN non-codant ubiquitaire qui inhibe le facteur d'élongation de la transcription PTEFb et joue de manière plus globale un rôle dans la régulation de la transcription. Le déficit de LARP7 engendre une déplétion de 7SK. Il s'agit d'un mécanisme moléculaire de nanisme primordial jusqu'alors non décrit.

Nous décrivons une seconde famille de deux sœurs consanguines d'origine Algérienne présentant un nanisme primordial, chez qui a été identifié par exome une mutation homozygote frameshift au sein de l'exon 7 de LARP7, (c.523\_524insTT ; p.Ala176Leufs\*37). Elles présentent un déficit intellectuel sévère avec absence de langage, marche acquise à 3 ans, propreté non acquise pour l'une d'elles. La présence de stéréotypies manuelles a fait évoquer un syndrome de Rett, mais la préhension est conservée. La microcéphalie est moins marquée que l'atteinte staturale avec un PC à -3.5DS, une taille à -6.5DS. La morphologie faciale est similaire à celle décrite précédemment avec une macrostomie, une enophtalmie, une racine du nez large, un philtrum court. Elles ont une limitation de l'extension des coudes, une spasticité des membres inférieurs et un cutis marmorata. L'une présente un kératocône et une communication inter-auriculaire. Le scanner et l'IRM cérébrales n'ont pas révélé d'autre anomalie qu'une atrophie globale. Les radiographies de squelette ont révélé des os grêles avec des corticales épaisses, des vertèbres hautes, et une brièveté du 4<sup>e</sup> métacarpien.

Nous précisons donc le spectre phénotypique des patients présentant ce type rare de nanisme primordial, reconnaissable cliniquement, associant une macrostomie, un DI sévère avec absence de langage et mouvements retoïdes, des anomalies squelettiques, et un PC relativement conservé. Nous discutons brièvement des mécanismes moléculaires impliqués dans les différents types de nanismes primordiaux, le nanisme de type Alazami répondant à un mécanisme original récemment décrit.

### Auteurs :

David Baux (1), Gema Garcia-Garcia (2), Valérie Faugère (1), Mélody Moclyn (1), Michel Koenig (1), Mireille Claustres (1), Anne-françoise Roux (1)

1. Génétique Moléculaire, CHRU Montpellier, Montpellier, France
2. Laboratoire de génétique de maladies rares, EA 7402, Université de Montpellier, Montpellier, France

**Mots clefs :** Séquençage nouvelle génération, méthodes de capture, capture de séquence

### Résumé :

La capture d'ADN par hybridation de sondes en phase liquide est à l'heure actuelle la solution de choix pour le séquençage de panels de gènes dans le cadre des maladies génétiquement hétérogènes. Récemment, deux nouvelles méthodes ont été commercialisées utilisant des quantités réduites d'ADN et une fragmentation enzymatique (Illumina NRCCE et Agilent SureSelect QXT). Ces méthodes présentent l'avantage d'un temps de préparation réduit (1,5-3 jours). Nous avons utilisé ces deux approches sur 24 échantillons afin d'évaluer leur efficacité en regard des résultats obtenus par la méthode référence NimbleGen Seqcap EZ Choice. Les échantillons étaient issus de patients atteints de surdité non syndromique ou de syndrome de Usher. Les panels étaient similaires et partageaient plus de 680 kb de séquences communes. Deux expériences de séquençage de 12 échantillons ont été réalisées par méthode (6 expériences en tout), et les données brutes ont été traitées de la même façon (Illumina MiSeq Reporter). Nous avons comparé, en nous focalisant sur les régions strictement communes, les paramètres susceptibles d'affecter la qualité de l'expérience, à savoir les profondeurs de lecture, les proportions de séquences sur cibles, l'uniformité de la répartition des lectures, le comportement dans des environnements de composition nucléotidique variable (composition en GC). Nous nous sommes également intéressés aux variants identifiés dans les différents jeux de données. Nous montrons que les nouvelles méthodes donnent des résultats exploitables mais globalement la méthode la plus efficace reste l'approche NimbleGen. NRCCE génère avec le panel utilisé un taux de duplicats important, tandis que SureSelect QXT engendre des proportions de séquences sur cibles plus faibles que les autres.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #2730 : Atteintes neurologiques centrales et périphériques inhabituelles associées à des mutations faux-sens de SOX10 avec relocalisation subnucléaire : relation génotype/phénotype?

#### Auteurs :

sandrine marlin (1), Anthula Kavou (2), souad gherbi (3), asma chaoui (4), Aurelia Jacqueline (5), viviane baral (4), Renaud Touraine (6), watanabe yuli (4), laure lecerf (4), Muriel Holder (7), Roberto Mendoza-Londono (8), Florence Petit (9), Véronique Pingault (10), nadège bondurand (4)

1. CRMR Surdités Génétiques, Service de Génétique Médicale, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France
2. IMRB équipe 6, INSERM U955, Créteil, France
3. CRMR Surdités Génétiques, Service de Génétique Médicale, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France
4. IMRB équipe 6, INSERM U955, Créteil, France
5. Génétique Médicale, Hôpital Pitié Salpêtrière, Paris, France
6. Génétique Médicale, CHU hôpital Nord, saint étienne, France
7. Génétique Médicale, Guy's et St Thomas's Hospital, Londres, France
8. Division of clinical and metabolic genetics, Division of clinical and metabolic genetics, Toronto, France
9. Génétique Médicale, Hôpital Jeanne de Flandres, Lille, France
10. Laboratoire de Biologie moléculaire, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France

**Mots clefs :** syndrome de waardenburg, SOX10, relation génotype/phénotype

#### Résumé :

Le syndrome de Waardenburg (WS) est une neurocristopathie rare caractérisée par l'association d'anomalies pigmentaires (peau, iris, cheveux) à une surdité. Quatre types sont décrits sur des bases cliniques, et six gènes impliqués à l'heure actuelle. Les mutations de SOX10 ont été décrites dans les types 2 et 4 (i.e., sans ou avec maladie de Hirschsprung), ainsi que dans des formes complexes à composante neurologique (PCWH ou PCW). Ce spectre phénotypique est largement expliqué par le rôle central de SOX10 au cours du développement de trois lignages dérivés de la crête neurale (mélanocytes, système nerveux entérique et cellules de Schwann) et des oligodendrocytes. Excepté pour les formes neurologiques de la maladie liées à des mutations non-sens, aucune corrélation génotype-phénotype n'est établie. Nous avons mis en évidence différentes mutations faux-sens affectant le codon 175 de SOX10 chez 6 patients (2 cas sporadiques et une forme familiale) présentant, en plus des signes classiques du WS2, une atteinte neurologique sévère qui est inhabituelle et progressive.

Les 6 patients présentent une neuropathie périphérique avec une perte progressive de la marche et des anomalies de la substance blanche objectivées à l'IRM cérébrale. Pour l'un d'entre eux, l'atteinte neurologique est survenue à l'âge adulte avec une atteinte des nerfs auditifs, une ataxie, une perte rapide de l'autonomie et une démence avec atrophie cérébrale. Trois patients présentent des troubles du comportement importants ou une pathologie psychiatrique. Afin de valider l'effet délétère de ces mutations, leurs conséquences ont été évaluées in vitro. De manière surprenante, nous avons montré que chacune d'entre elles induit une relocalisation des protéines résultantes dans des structures subnucléaires contenant d'autres protéines dont p54NRB, marqueur connu des paraspeckles et cofacteur de SOX10. Lorsque la protéine sauvage est co-transfectée avec chacun des mutants, celle-ci est également relocalisée dans ces corps nucléaires, et une perte de l'effet synergique entre la protéine SOX10 sauvage et p54NRB sur différents gènes cibles est observée. Ces résultats, qui miment un effet dominant négatif, pourraient être à l'origine du phénotype particulier observé chez les patients concernés. Des modifications identiques de la fonction de SOX10 ont été observées lors de l'analyse fonctionnelle d'une autre mutation faux-sens affectant l'acide aminé 174 adjacent. Une réévaluation clinique de ce patient a montré qu'il présente des signes cliniques proches de ceux de nos patients. L'ensemble de nos données cliniques et cellulaires sont donc en faveur d'une relation génotype/phénotype de certaines mutations faux-sens de SOX10, améliorant les connaissances physiopathologiques, le suivi des patients et le conseil génétique.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #2732 : Mise en place du diagnostic moléculaire de la Sclérose Latérale Amyotrophique par Séquençage de Nouvelle Génération (NGS)

#### Auteurs :

Patrick Vourc'h (1), Sylviane Marouillat (2), Céline Brulard (2), Rose-Anne Thépault (2), Catherine Antar (3), Cindy Maurel (2), Audrey Dangoumau (2), Hélène Blasco (1), Philippe Corcia (4), Christian R Andres (1)

1. INSERM U930, Service de Biochimie et Biologie moléculaire, CHRU de Tours, Tours, France
2. INSERM U930, , Tours, France
3. , Service de Biochimie et Biologie moléculaire, CHRU de Tours, Tours, France
4. INSERM U930, Centre SLA du CHRU de Tours, Tours, France

**Mots clefs :** SLA, Sclérose latérale amyotrophique, motoneurone, NGS, séquençage

#### Résumé :

**INTRODUCTION.** La Sclérose Latérale Amyotrophique (SLA) est une maladie neurodégénérative de l'adulte caractérisée par la mort progressive des neurones moteurs. 5 à 10% des cas de SLA sont familiaux, et l'étude de ces familles a conduit à l'implication de plus d'une trentaine de gènes.

**OBJECTIFS.** Le diagnostic moléculaire des cas familiaux de SLA nécessite d'étudier l'ensemble de ces gènes. Ceci est aujourd'hui possible par reséquençage ciblé grâce au séquençage de nouvelle génération (NGS). Le panel de gènes analysés a été choisi en concertation avec le réseau des Centres SLA et la Filière FILSLAN (Filière de Santé Maladies Rares Sclérose Latérale Amyotrophique et Maladies du motoneurone).

**METHODES.** Les patients SLA analysés ne présentaient pas d'expansion de l'hexanucléotide du gène C9ORF72, mutation la plus fréquente dans la SLA. Les ADN ont été soumis à digestion enzymatique puis hybridation avec des sondes oligonucléotidiques correspondant à un panel de 33 gènes. Les bibliothèques générées, constituées des exons et régions de jonction exon-intron de l'ensemble des gènes (panel à façon Haloplex, Agilent), ont été qualifiées et quantifiées puis analysées par séquenceur Miseq (Illumina).

**RESULTATS.** Nous avons séquencé 33 gènes (295 Kbp analysés) dans une cohorte de patients SLA. Plusieurs séries de 4 à 12 patients ont été étudiées, le nombre de patients par série étant fonction du support choisis pour le séquençage (micro ou nano flow cells d'Illumina). Les étapes de mise au point nous ont conduits à effectuer une double purification des bibliothèques pour éliminer les dimères d'adaptateurs, avant séquençage en paired-end (150pb x 2). Ceci a permis d'obtenir 90% des reads avec une qualité supérieure à Q30 et un alignement par l'algorithme Tophat de meilleure qualité sur le génome humain complet (92% d'alignement en moyenne). Les mutations ont été identifiées par le logiciel SureCall puis annotées avec le logiciel Alamut Batch. Parmi les 48 mutations identifiées dans la cohorte de patients, 23% étaient répertoriées dans une base de données sur la SLA (ALSOD), 42% avaient des fréquences alléliques inférieures à 1% dans la base 1000 genomes, et 13% étaient des nouvelles mutations non décrites à ce jour. L'ensemble de ces mutations ont été confirmées par séquençage Sanger et analysées par des logiciels de prédiction de pathogénicité.

**DISCUSSION-CONCLUSION** L'approche de diagnostic moléculaire par NGS des formes familiales de SLA est devenue nécessaire du fait du grand nombre de gènes impliqués dans la maladie, une liste de gènes qui continue de s'étoffer. L'intérêt du NGS dans la SLA se trouve aussi renforcé par les résultats des travaux récents en faveur de la co-existence de plusieurs mutations chez un même patient. Cette analyse se justifie donc par un caractère oligo- ou polygénique de la SLA et des variations phénotypiques au sein des familles, suggérant la participation de gènes modulateurs.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #2737 : Analyse des exons de 74 gènes potentiellement impliqués dans les paraplégies spastiques héréditaires par enrichissement ciblé

#### Auteurs :

Mathilde Mairey (1), Laure Raymond (2), Sara Morais (3), Livia Parod (1), Emeline Mundwiller (1), Guillaume Banneau (4), Eric Leguern (5), Yannick Marie (6), Alexis Brice (1), Alexandra Durr (7), Giovanni Stevanin (2)

1. Equipe : Bases moléculaires, physiopathologie et traitement des maladies neurodégénératives, Institut du Cerveau et de la Moelle épinière (Sorbonne Universités, UPMC Univ Paris 6 UM75, INSERM U1127CNRS UMR7225, NEB), Paris, France
2. Equipe : Bases moléculaires, physiopathologie et traitement des maladies neurodégénératives, Institut du Cerveau et de la Moelle épinière (Sorbonne Universités, UPMC Univ Paris 6 UM75, INSERM U1127CNRS UMR7225, NEB), CHU Pitié Salpêtrière, Equipe de Neurogénétique, Ecole Pratique des Hautes Etudes, héSam Université, Paris, France, Paris, France
3. UnIGENE, IBMC, Porto, Portugal
4. Fédération de Génétique, CHU Pitié-Salpêtrière, Paris, France
5. Fédération de Génétique, Institut du Cerveau et de la Moelle épinière (Sorbonne Universités, UPMC Univ Paris 6 UM75, INSERM U1127CNRS UMR7225, NEB), CHU Pitié-Salpêtrière, Paris, France
6. Plateforme Génotypage et Séquençage, Institut du Cerveau et de la Moelle épinière (Sorbonne Universités, UPMC Univ Paris 6 UM75, INSERM U1127CNRS UMR7225, NEB), Paris, France
7. Equipe : Bases moléculaires, physiopathologie et traitement des maladies neurodégénératives, Institut du Cerveau et de la Moelle épinière (Sorbonne Universités, UPMC Univ Paris 6 UM75, INSERM U1127CNRS UMR7225, NEB), CHU Pitié-Salpêtrière, Paris, France

**Mots clefs :** Paraplégies Spastiques Héréditaires, Capture ciblée, Séquençage de Nouvelle Génération

#### Résumé :

Les paraplégies spastiques héréditaires (PSH) constituent un groupe de troubles neurodégénératifs avec une forte hétérogénéité phénotypique et des mutations dans plus de 70 gènes. Le tableau clinique se caractérise par une spasticité des membres inférieurs s'aggravant progressivement avec l'apparition secondaire d'un déficit moteur. Il existe deux catégories de PSH : les formes pures limitées à l'atteinte pyramidale des membres inférieurs et les formes complexes caractérisées par la présence d'autres symptômes neurologiques ou extra neurologiques. Cette forte hétérogénéité rend les tests moléculaires classiques longs et fastidieux, c'est pourquoi un kit de capture ciblé, couplé au séquençage de nouvelle génération, a été développé au laboratoire afin d'analyser les exons de 74 gènes potentiellement impliqués dans les PSH.

Une cohorte de 283 patients (218 patients de la cohorte SPATAX dont 153 français et 98 portugais, et 32 patients italiens) a été séquencée et analysée à l'aide de ce kit de capture ciblé. Les ADNs ont été préparés en utilisant les kits de préparation de bibliothèques Kapa. Le panel de cibles de captures (1042 régions) correspondant aux exons des 74 gènes de PSH a été désigné par Roche-NimbleGen (SeqCap EZ). Le séquençage des patients a été réalisé sur le MiSeq (Illumina). L'alignement et la détection des variants ont été effectués grâce au logiciel Genomics Workbench (CLC bio).

Les variants ont été filtrés et priorisés, puis vérifiés par séquençage Sanger chez les patients et leurs apparentés disponibles afin d'établir la ségrégation. Parmi ces 283 patients, le gène responsable du phénotype a pu être identifié dans 33,1% des cas. Pour 36,4% des patients, aucun variant d'intérêt n'a pu être détecté. Pour 30,5% des patients, un ou plusieurs variants de signification inconnue ont été mis en évidence, dans ce cas, les connaissances actuelles des gènes impliqués n'ont pas permis de conclure quant à leur implication dans la maladie.

Grâce à l'utilisation du kit de capture ciblé couplé au séquençage de nouvelle génération, le nombre de diagnostics moléculaires a pu être augmenté par rapport à l'utilisation des méthodes classiques basées sur des arbres décisionnels pour les analyses génétiques en fonction de la transmission. Le criblage de ces 283 patients a montré l'importance d'avoir testé le même set de gènes sur des patients avec des modes de transmission différents, mettant ainsi en évidence des modes de transmission inattendus pour certains gènes. L'extension de ce kit avec des gènes impliqués dans des phénotypes chevauchants (Ataxies, SLA, parkinson, dystonies, DFT) est en cours de développement.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #2741 : Une proportion significative des mutations du gène NIPBL dans le syndrome de Cornelia de Lange surviennent en période post-zygotique

#### Auteurs :

Sophie Rondeau (1), Marcia Henry (1), Mathilde Nizon (1), Cécile Fourrage (1), Caroline Michot (1), Patrick Nitschke (2), Daniel Amram (3), Clarisse Baumann (4), Jean Chiesa (5), Anne Constanty (6), Albert David (7), Mélanie Fradin (8), Benoit Funalot (9), Emmanuelle Ginglinger (10), Marie-Line Jacquemont (11), Aurélia Jacqueline (12), Didier Lacombe (13), Stanislas Lyonnet (1), Nicole Philip (14), Céline Poirsier (15), Marlène Rio (1), Marie Vincent (16), Arnold Munnich (1), Geneviève Baujat (1), Valérie Cormier-Daire (1), Jean-Paul Bonnefont (1)

1. Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité - Service de génétique médicale , Institut Imagine - Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
2. Plateforme de Bioinformatique, Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, Paris, France
3. Unité de génétique clinique, Centre hospitalier intercommunal, Créteil, France
4. Département de Génétique, CHU Robert Debré, Paris, France
5. Unité de Génétique Médicale et Cytogénétique, CHU, Hôpital Caremeau, Nimes, France
6. Département de pédiatrie médicale, CHU Dupuytren, Limoges, France
7. Service de Génétique Médicale, CHU Nantes, Nantes, France
8. Service de Génétique Clinique, CHU Rennes, Hôpital Sud, Rennes, France
9. Département de Génétique, GHU Henri Mondor, Créteil, France
10. Service de génétique, CH de Mulhouse, Mulhouse, France
11. Unité de génétique médicale, CHU de la Réunion - GHSR - GH Sud-Réunion, Saint-Pierre, France
12. Département de Génétique et Cytogénétique, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France
13. Service de génétique médicale, CHU de Bordeaux-GH Pellegrin, Bordeaux, France
14. Département de génétique médicale, CHU de Marseille - Hôpital de la Timone, Marseille, France
15. Service de Génétique, CHU de Reims, Hôpital Maison Blanche, Reims, France
16. Service de génétique médicale, CHU Nantes, Nantes, France

**Mots clefs :** Cornelia de Lange, NGS, salive, mosaïque, NIPBL

#### Résumé :

Le syndrome de Cornelia de Lange [MIM #122470, 300590, 610759, 300882, 614701] est un syndrome malformatif rare caractérisé par un retard de croissance intra-utérin et post-natal, une dysmorphie faciale caractéristique (synophrys, philtrum long, narines antevernées, lèvre supérieure très fine et micrognathie), un hirsutisme, des difficultés alimentaires, des anomalies des extrémités et un retard intellectuel de sévérité variable (Jackson et al., 1993).

A ce jour, 5 gènes ont été décrits, tous impliqués dans le complexe cohésine. Des mutations hétérozygotes dans le gène *NIPBL* [MIM #608667] sont décrites dans 60% des cas (Krantz et al., 2004; Tonkin et al., 2004; Mannini et al., 2013), alors que des mutations dans les gènes *SMC1A* [MIM #300040], *SMC3* [MIM #606062], *HDAC8* [MIM #300269] et *RAD21* [MIM #606462] sont identifiées dans environ 10% des cas. La quasi-totalité des mutations sont des événements de novo. Récemment des cas de mosaïques somatiques du gène *NIPBL* ont été décrits avec des mutations présentes dans l'ADN extrait des cellules buccales mais absentes de l'ADN extrait des cellules sanguines (Huisman et al., 2013).

Ici nous présentons une série de 32 patients (ADN extrait de cellules buccales (17), de tissus foetaux (4) et de leucocytes circulants (11)) dont les gènes *NIPBL*, *SMC1A*, *SMC3*, *HDAC8* et *RAD21* ont été séquencés par la méthode NGS (panel de 5 gènes, PCR multiplex, séquençage sur MiSeq (Illumina®)). Seules des mutations dans le gène *NIPBL* ont été identifiées, chez 13 patients (ADN extrait de cellules buccales (6), de tissus foetaux (3) et de leucocytes circulants (4)). Parmi les 6 patients dont la mutation a été détectée à partir de l'ADN extrait de cellules buccales, celle-ci est présente à l'état de mosaïque intratissulaire dans 4 des 6 cas et absente de l'ADN extrait des leucocytes dans 5 des 6 cas (mosaïque intertissulaire).

L'intérêt du NGS dans le syndrome du Cornelia de Lange ne se situe pas ici dans le nombre de gènes étudiés puisque seules des mutations dans le gène *NIPBL* ont été identifiées mais dans le gain de temps technique et de coût consommables et surtout dans la possibilité de détecter de faibles taux de mutation en mosaïque grâce à la grande profondeur de lecture des séquences (> 200X). Cette dernière donnée a un impact majeur en terme de conseil génétique : les parents d'enfants atteints du syndrome de Cornelia de Lange en rapport avec une

mosaïque somatique peuvent être définitivement rassurés vis-à-vis du risque de récurrence de cette affection dans leur descendance ultérieure.

Nous recommandons donc de 1ère intention, le séquençage par NGS ciblé du gène *NIPBL* réalisé sur de l'ADN extrait de cellules buccales afin d'optimiser le diagnostic moléculaire du syndrome de Cornelia de Lange.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #2742 : Effet de la mutation p.Arg357His du gène PCSK9 sur le métabolisme basal et postprandial des lipoprotéines

#### Auteurs :

Mathilde VARRET (1), Marianne ABIFADEL (2), Athina-Despina KALOPISSIS (3), Sira FOUTOUMATA MAIGA (4), Gilles LAMBERT (5), Catherine BOILEAU (1)

1. INSERM U1148, CHU Bichat, PARIS, France
2. Université Saint Joseph, INSERM U1148, Beyrouth, Liban
3. INSERM U872, Centre de recherche des Cordeliers, PARIS, France
4. INSERM U872, Centre de recherche des Cordeliers, Paris, France
5. INSERM U957, Faculté de Médecine, Nantes, France

**Mots clefs :** PCSK9, modèle animal, hypercholestérolémie, cholestérol, HDL, LDL, triglycérides, lipoprotéine, poids

#### Résumé :

**Introduction :** *PCSK9* (proprotéin convertase subtilysin kexin-like 9) est un gène bivalent dans lequel les mutations gain de fonction induisent l'élévation isolée du cholestérol-LDL qui caractérise l'hypercholestérolémie familiale, alors que les mutations perte de fonction sont à l'origine d'hypocholestérolémie. La mutation p.Arg357His-*PCSK9* a été identifiée dans une famille française atteinte d'hypercholestérolémie suggérant qu'il s'agit d'une mutation gain de fonction.

**Objectif :** Le but de cette étude est d'évaluer *in vivo* l'effet de cette mutation sur le métabolisme des lipoprotéines.

**Méthodes :** Deux lignées des souris transgéniques ont été construites: 1) une souris Knock-In (KI) pour la mutation p.Arg357His qui est un modèle avec une expression ubiquitaire; 2) une souris transgénique classique (N) qui surexprime le gène *PCSK9* humain muté uniquement dans le foie. Afin de mimer la concentration de LDL humaine, qui est élevée alors que celle de la souris est presque nulle, nous avons croisé les souris KI et N avec une souris double transgénique pour les gènes *APOB* et *CETP* humains (BC).

**Résultats :** Étonnamment, les souris KI présentaient un taux de cholestérol total et de cholestérol-HDL significativement diminué par rapport aux souris WT, que ce soit sous régime standard ou après deux semaines d'un régime riche en saccharose (60%). Cette observation soulevait le doute quant à la nature de la mutation p.Arg357His-*PCSK9*: gain ou perte de fonction ? Par contre, toutes les souris (KI, N, BCKI, BCN) ne présentaient pas de variation significative des taux de cholestérol total, cholestérol-HDL ou cholestérol-LDL, que ce soit à jeun, en postprandial (après gavage à l'huile d'olive) ou sous un régime hyper-gras. Par ailleurs, le taux de triglycérides basal ne varie pas, alors que ce taux postprandial est significativement diminué chez les souris KI et N comme cela est observé pour la souris invalidée pour le gène *PCSK9*, et ce qui suggère un rôle de *PCSK9* dans le métabolisme des triglycérides. Curieusement, les souris BCKI et BCN sont plus maigres que les souris BC suggérant un rôle possible de *PCSK9* dans le contrôle du poids.

**Conclusion :** L'identification d'un rôle de *PCSK9* dans le contrôle du poids pourrait ouvrir la voie à de nouvelles opportunités pour les traitements pas les anti-*PCSK9*.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

**#2748 : Implication de micro-remaniements ne touchant qu'un seul élément régulateur du gène SHOX (délétion CNE+5 et duplications CNE+9 ou CNE-5) dans l'étiologie moléculaire de la dyschondrostéose de Léri-Weill et de la petite taille non syndromique.**

### Auteurs :

Arthur SORLIN (1), Pierre-François SOUCHON (2), Béatrice LEBON-LABICH (3), Hélène FERRY (4), Bruno LEHEUP (5), Julie AUGER (3), Virginie ROTH (1), Sandrine PERE (1), Peggy BOUQUET (1), Philippe JONVEAUX (1), Christophe PHILIPPE (1)

1. Laboratoire de Génétique, CHRU de Nancy, NANCY, France
2. Service de Pédiatrie A, American Memorial Hospital, CHU de Reims, REIMS, France
3. Service de Médecine Infantile, Hôpital d'Enfants, CHRU de Nancy, NANCY, France
4. Service de Pédiatrie, Hôpital Mère Enfant, CHR de Metz, Metz, France
5. Service de Génétique Clinique, Hôpital d'Enfants, CHRU de Nancy, NANCY, France

**Mots clefs :** SHOX, croissance, dyschondrostéose de Léri-Weill, éléments régulateurs, CNE5, CNE-5, CNE9

### Résumé :

Une anomalie du gène *SHOX* peut être responsable de phénotypes variés, allant de la petite taille non syndromique (ISS, Idiopathic short stature) à la dysplasie mésomélique type Langer en passant par la dyschondrostéose de Léri-Weill (DLW). La DLW associe une petite taille, une mésomélie et une déformation de Madelung caractéristique. Ces pathologies squelettiques sont dans la majorité des cas le résultat de mutations ponctuelles ou de grandes délétions touchant tout ou partie du gène *SHOX*. À l'inverse, de grandes duplications de l'ensemble du gène *SHOX* peuvent être associées à une grande taille. Des CNE (conserved non-coding elements) situés en amont ou en aval de *SHOX* jouent le rôle d'éléments *cis* régulateurs de l'expression de *SHOX*. Récemment, des micro-délétions ou des micro-duplications de la région pseudo-autosomique 1 (PAR1) en Xpter proche du gène *SHOX* et contenant un/plusieurs CNE ont été rapportées chez des patients présentant une DLW. Il a été suggéré que les duplications touchant certains CNE proches de *SHOX* seraient responsables d'une petite taille modérée sans déformation de Madelung. Cependant, ces anomalies ont également été rapportées chez des sujets asymptomatiques. Récemment, une micro-duplication isolée du CNE9, en aval de *SHOX*, a été rapportée chez deux patients porteurs d'une petite taille non syndromique (Sandoval *et al.*, 2014, et Fukami *et al.*, 2015). Nous présentons trois familles porteuses de micro-remaniements atypiques :

- duplication isolée du CNE+9 associée à un phénotype complet de DLW, avec une mésomélie, une petite taille (de -2,8 DS à -3DS) et une déformation de Madelung (4 membres atteints),
- délétion isolée du CNE+5 dans un contexte de petite taille isolée (3 membres atteints),
- duplication isolée du CNE-5 dans un contexte de petite taille non syndromique (2 membres atteints, -2,6 DS et -3 DS).

Ces études confirment l'importance des éléments régulateurs de *SHOX* et leur implication dans l'étiologie moléculaire du syndrome de Léri-Weill et de la petite taille non syndromique familiale.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #2757 : Etude moléculaire et clinique d'une cohorte de 110 patients algériens avec ataxie autosomique récessive

#### Auteurs :

Traki Benhassine (1), Wahiba Hamza (1), Lamia Ali Pacha (2), Tarik Hamadouche (3), Meriem Tazir (2), Michel Koenig (4)

1. Laboratoire de Biologie Cellulaire et Moléculaire, FSB, USTHB, Bab Ezzouar, Alger, Algérie
2. Service de Neurologie et Laboratoire de Recherche en Neurosciences, CHU Mustapha Bacha, Alger, Algérie
3. Laboratoire de Biologie Moléculaire, FS, UMBB, Boumerdes, Algérie
4. Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire, Illkirch, Strasbourg, France

**Mots clefs :** ARCA, ataxies autosomiques récessives, cohorte, Algérie

#### Résumé :

Les Ataxies Cérébelleuses Autosomiques Récessives (ARCA) sont des pathologies neurodégénératives dont l'hétérogénéité génétique et phénotypique est à l'origine d'une complexité et de la difficulté rencontrée lors de l'établissement d'un diagnostic étiologique précis. En effet, avec plus de 30 gènes/loci associés à ce jour et plus de 20 entités cliniques distinctes et au vu du large spectre clinique des ARCA ainsi que la présence de formes atypiques et de chevauchements entre les différentes formes, le diagnostic de ces pathologies, qui repose alors sur l'exploration moléculaire des patients, est souvent laborieux.

Nous avons exploré un large panel de 166 patients algériens (115 familles) avec un diagnostic clinique d'ARCA. Les explorations moléculaires consistaient dans un premier temps à cribler les mutations responsables de l'ataxie de Friedreich et de l'ataxie avec déficit isolé en vitamine E, formes les plus fréquentes en Algérie. Nous avons par la suite poursuivi les explorations en criblant différents gènes responsables d'ARCA par séquençage direct puis par capture génomique ciblée couplée au séquençage haut-débit de 57 gènes associées à des phénotypes d'ataxies héréditaires.

Les différentes explorations moléculaires menées nous ont permis d'établir un diagnostic génétique pour 110 patients issus de 76 familles et d'identifier 23 altérations moléculaires différentes siégeant dans 9 gènes différents d'ARCA. Parmi les patients avec diagnostic génétique d'ataxie cérébelleuse de transmission autosomique récessive, l'ataxie de Friedreich et l'Ataxie avec Déficit isolé en Vitamine E sont les deux principales ataxies et représentent à elles seules 61.82% des formes retrouvées dans notre cohorte. Les 5 formes d'ataxies apparaissant comme les plus fréquentes dans notre population sont l'ataxie de Friedreich, l'ataxie avec déficit isolé en vitamine E, ataxie avec apraxie oculomotrice 2, l'ataxie autosomique et spastique de Charlevoix-Saguenay, ataxie avec apraxie oculomotrice 1 et représentent 90.9% des patients de notre cohorte.

Nous avons mis en évidence qu'en plus des formes et mutations les plus communes, il existe dans notre population des ataxies considérées comme rares, voire très rares, et qui pourraient être sous-diagnostiquées, nous avons également identifié des formes décrites pour la première fois en Algérie notamment les premiers cas génétiquement établis d'ataxie de Beauce et du syndrome de Marinesco-Sjögren.

Peu d'études épidémiologiques existent sur les ARCA dans le monde. Ce travail représente la première étude du contexte génétique de ces pathologies en Algérie, d'autres études multicentriques permettront à long terme d'avoir une meilleure compréhension des différents aspects des ARCA et une meilleure orientation dans le cadre de la conduction des explorations génétiques. Une meilleure compréhension des rapports génotypes/phénotypes facilitera les investigations moléculaires pour une prise en charge rapide et efficace des patients.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #2761 : Dysgénésies thyroïdiennes: Etude du gène TSHR Chez des familles du sud Tunisien

#### Auteurs :

rim chaabane (1), Ikhlass Ben Ayed (2), Bochra Ben Rhouma (3), Mouna Mnif (4), Thouraya Kamoun (5), Leila Keskes (6), Hassen HassenKamoun (7), Neila Belguith (8), Neila Belguith (8)

1. Laboratoire de Génétique Moléculaire Humaine, Faculté de Médecine, Sfax, Tunisie, Faculté des sciences de Sfax , Sfax, France
2. Service de Génétique, CHU Hédi Chaker, Sfax, Service d'endocrinologie, CHU Hédi Chaker, Sfax, Sfax, France
3. Laboratoire de Génétique Moléculaire Humaine, Faculté de Médecine, Sfax, Tunisie, Faculté des sciences de Sfax , Sfax , France
4. Service d'endocrinologie, CHU Hédi Chaker, Sfax, Service d'endocrinologie, CHU Hédi Chaker, Sfax, Sfax , France
5. Service de Pédiatrie, CHU Hédi Chaker, Sfax, Service de Pédiatrie, CHU Hédi Chaker, Sfax, Sfax , Tunisie
6. Laboratoire de Génétique Moléculaire Humaine, Faculté de Médecine, Sfax, Tunisie, Laboratoire de Génétique Moléculaire Humaine, Faculté de Médecine, Sfax, Tunisie, Sfax , Tunisie
7. Service de Génétique, CHU Hédi Chaker, Sfax, Service de Génétique, CHU Hédi Chaker, Sfax, Sfax, Tunisie
8. Laboratoire de Génétique Moléculaire Humaine, Faculté de Médecine, Sfax, Tunisie, Service de Génétique, CHU Hédi Chaker, Sfax, Sfax , Tunisie

**Mots clefs :** dysgénésies thyroïdiennes, hypothyroïdie congénitale, gène TSHR, polymorphismes.

#### Résumé :

**Introduction :** L'hypothyroïdie congénitale est la maladie endocrinienne congénitale la plus fréquente, elle touche 1/3000 à 1/4000 naissances. L'hypothyroïdie congénitale par dysgénésie thyroïdienne est une maladie causée par un défaut du développement de la glande thyroïdienne soit par agénésie, ectopie, ou hypoplasie d'une thyroïde ectopique.

**Objectif:** L'objectif de cette étude est de rechercher les éventuelles anomalies génétiques impliquées dans l'hypothyroïdie congénitale non syndromique chez des familles du sud Tunisien. Ainsi, on s'est intéressée à la recherche des mutations dans le gène *TSHR* comme facteur candidat de l'hypothyroïdie congénitale chez ces patients.

**Patients et méthodes :** Notre étude a porté sur des cas familiaux de dysgénésie thyroïdienne colligés aux services de pédiatrie et d'endocrinologie de CHU de Sfax. L'analyse génétique a été faite, après extraction de l'ADN lymphocytaire, par amplification par PCR des différents exons du gène *TSHR* puis séquençage.

**Résultats :** Le séquençage des différents exons du gène *TSHR* a permis de révéler la présence de quatre polymorphismes décrits. Deux polymorphismes synonymes, l'un au niveau de l'exon 7 du gène *TSHR* c.561T > C (rs 2075179) chez un seul patient atteint d'hypothyroïdie congénitale et l'autre au niveau de l'exon 10 c.1290G > A (rs375393735) p.Leu430= (chez deux patients). Ainsi que deux polymorphismes non synonymes, le premier au niveau de l'exon 5 du gène *TSHR* c.449 C > T (rs371283732) p.thr150Ile (chez deux patients) et le deuxième au niveau de l'exon 10 (rs1991517) c.2181G > C chez six patients. L'étude bioinformatique de la variation c.2181G > C par NB CUTTER a montré que cette variation abolit un site de restriction (BssSI) et crée un nouveau site (FatI). De même l'étude *in silico* de cette dernière avec le programme ESE finder a montré que la substitution c.2181G > C crée une nouvelle séquence enhancer d'épissage «CGACATG ». Cependant aucune mutation n'a été révélée jusque-là au niveau du gène *TSHR*.

**Conclusion :** Nous avons prédit l'effet du polymorphisme c.2181G > C sur le récepteur de la TSH. Une analyse de sa ségrégation au sein de nos familles et dans des cas témoins est envisagée. De plus, nous envisageons de rechercher des nouveaux polymorphismes ou des mutations au sein des autres gènes impliqués dans les dysgénésies thyroïdiennes

**#2763 : Novel splice site mutation in *CNNM4* gene in a Moroccan patient with Jalili syndrome**

**Auteurs :**

Imane Cherkaoui Jaouad (1), Soukaina Guaoua (2), Jaber Lyahyai (3), Mustapha El Alloussi (4), Yassamine Doubaj (5), Abdelkrim Boulanouar (6), Abdelaziz Sefiani (5)

1. Département d Génétique Médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Maroc
2. Centre de Génomique Humaine, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université Mohammed V Rabat, Rabat, Maroc
3. Centre de Génomique Humaine, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université Mohammed V, Rabat, Rabat, Maroc
4. Service d'odontologie pédiatrique, Faculté de médecine dentaire, Université Mohammed V, Rabat, Rabat, Maroc
5. Département de Génétique Médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Rabat, Maroc
6. Service d'ophtalmologie B, CHU Ibn sina, Rabat, Rabat, Maroc

**Mots clefs :** Amelogenesis imperfecta, Cone-rod dystrophy, Jalili, Splice site mutation

**Résumé :**

Jalili syndrome is a rare autosomal recessive genetic disease characterized by the association of amelogenesis imperfecta and cone-rod retinal dystrophy. This syndrome is caused by mutations in the *CNNM4* gene. Different types of *CNNM4* mutations have been reported; missense, nonsense, large deletions, single base insertion, and duplication.

We used Sanger sequencing to analyze a large consanguineous family with three siblings affected with Jalili syndrome, suspected clinically after dental and ophthalmological examination.

We report the first description of a Moroccan Jalili syndrome family with three sibling patients carrying a novel homozygous mutation in the splice site acceptor of intron 3 (c.1682-1G>C) in the *CNNM4* gene that produces a truncated and pathogenic form of CNNM4 protein.

Our results confirm the clinical diagnosis of Jalili syndrome in this reported family and contribute to shed light on the molecular genetics of Jalili syndrome.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #2764 : Further evidence for causal *FAM20A* mutations and first case of Amelogenesis Imperfecta and Gingival Hyperplasia Syndrome in Morocco

#### Auteurs :

Imane Cherkaoui Jaouad (1), Fatima Zahra Laarabi (2), Mustapha El Alloussi (3), Siham Chafai El Alaoui (4), Jaber Lyahyai (5), Abdelaziz Sefiani (2)

1. Département d Génétique Médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Maroc
2. Département de Génétique Médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Rabat, Maroc
3. Service d'odontologie pédiatrique, Faculté de médecine dentaire, Université Mohammed V, Rabat, Rabat, Maroc
4. Département d Génétique Médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Rabat, Maroc
5. Centre de Génomique Humaine, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université Mohammed V, Rabat, Rabat, Maroc

**Mots clefs :** Amelogenesis imperfecta, *FAM20A*, Gingival hyperplasia

#### Résumé :

Background: Amelogenesis imperfecta represents a group of developmental conditions, clinically and genetically heterogeneous, which affect the structure and clinical appearance of enamel. Amelogenesis imperfecta occurred as an isolated trait or as part of a genetic syndrome. Recently, disease-causing mutations in the *FAM20A* gene were identified, in families with an autosomal recessive syndrome associating amelogenesis imperfecta and gingival fibromatosis.

Case presentation: We report, the first description of a Moroccan patient with amelogenesis imperfecta and gingival fibromatosis, in whom we performed Sanger sequencing of the entire coding sequence of *FAM20A* and identified an homozygous mutation in the *FAM20A* gene (c.34\_35delCT), already reported in a family with this syndrome.

Conclusion: Our finding confirms that mutations of *FAM20A* gene are causative for amelogenesis imperfecta and gingival fibromatosis and underline the recurrent character of the c.34\_35delCT in two different ethnic groups.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

**#2766 : Evaluation d'un modèle d'épithélium nasal différencié ex vivo pour la détection d'épissages alternatifs et aberrants du gène CFTR par PCR multiplexe fluorescente.**

### Auteurs :

Anne BERGOUGNOUX (1), Fanny VERNEAU (1), Jean-Pierre ALTIERI (1), Jennifer BONINI (2), Jessica VARILH (1), Caroline GUITTARD (3), Mireille CLAUSTRES (2), Michel KOENIG (1), Magali TAULAN-CADARS (2), Caroline RAYNAL (1)

1. Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHRU de Montpellier - IURC, Montpellier, France
2. EA7402 Laboratoire de Génétique de Maladies Rares, Université de Montpellier, Montpellier, France
3. Département d'Hématologie Biologie, CHRU de Montpellier, Montpellier, France

**Mots clefs :** transcrits CFTR, épissage, PCR multiplexe fluorescente, culture interface air-liquide, cellules nasales

### Résumé :

La mucoviscidose (CF ou *Cystic Fibrosis* ; MIM# 219700) est causée par des mutations du gène *CFTR* (*Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator* ; MIM# 602421) qui code pour un canal à ions chlorures exprimé à la membrane apicale des cellules épithéliales polarisées. A ce jour, plus de 2000 variations de séquences sont rapportées sur ce gène, parmi lesquelles 13% affecteraient l'épissage. Ce pourcentage, déjà certainement sous-estimé, devrait croître avec l'utilisation des technologies NGS qui permettent d'explorer la totalité du gène, menant à l'identification de variants dans les régions introniques profondes. La caractérisation fonctionnelle des variants d'épissage utilise classiquement des systèmes de minigènes *in vitro*. Toutefois, le nombre croissant de variants à évaluer et certaines différences des profils d'épissages observées entre minigènes et transcrits *ex vivo* soulèvent la nécessité d'analyser directement les transcrits *CFTR* au sein de la cellule épithéliale du patient. Le prélèvement de cellules nasales (CN) de patients est peu invasif mais ne fournit qu'une faible quantité de matériel biologique. La culture *ex vivo* d'épithélium nasal différencié en interface air-liquide (ALI) permettrait d'amplifier ce matériel. L'objectif de ce travail est donc d'évaluer la pertinence de l'utilisation de ce modèle pour la détection des épissages aberrants du gène *CFTR*.

Des analyses d'immunofluorescence et d'immunohistochimie ont permis de caractériser le modèle ALI. Les ARN totaux, issus de témoins non-CF et de patients CF, ont été extraits des CN et des cultures ALI. Les transcrits *CFTR* ont été quantifiés par PCR en temps réel. Une PCR multiplexe semi-quantitative fluorescente (QMPSF) a été mise au point pour ce travail afin d'analyser le transcrit *CFTR* dans sa totalité (4 mix d'amorces couvrant les 27 exons).

Nous montrons que la culture *ex vivo* des cellules nasales permet l'obtention d'épithéliums correctement différenciés. Les épissages alternatifs connus du gène *CFTR* sont détectables dans les CN et les ALI des témoins, bien qu'ils semblent être sous-représentés dans les ALI. Les transcrits aberrants liés à des variants du gène *CFTR* sont également mis en évidence, aussi bien dans les CN que dans les ALI de patients CF.

En conclusion, les épissages alternatifs et aberrants ayant été détectés dans le modèle d'épithélium ALI, il peut être utilisé comme matériel alternatif aux CN pour l'analyse des transcrits *CFTR*. Par ailleurs, la technique de QMPSF développée dans ce travail pourra être appliquée au diagnostic moléculaire des pathologies liées aux mutations de *CFTR* soit (1) pour évaluer l'impact sur l'épissage des variants de signification inconnue après identification par technique de balayage classique ou NGS, soit (2) en première intention pour la détection d'un profil d'épissage anormal permettant ainsi de cibler la région à séquencer et secondairement d'identifier la mutation causale.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #2774 : A la découverte de nouveaux gènes impliqués dans la maladie de Parkinson à transmission récessive

#### Auteurs :

Valérie Drouet (1), Maxime Jacoupy (1), Florence Cormier (2), Aude Nicolas (1), Mourad Sabahtou (3), Stefan Liebau (4), Ebba Lohmann (5), Meriem Tazir (6), Anne-Louise Leutenegger (7), Andrew Singleton (8), Olga Corti (1), Suzanne Lesage (1), Alexis Brice (9)

1. Sorbonne Universités, UPMC Univ Paris 06 UMR S 1127, Inserm U 1127, CNRS UMR 7225, Institut du Cerveau et de la Moelle épinière, Paris, France
2. Sorbonne Universités, UPMC Univ Paris 06 UMR S 1127, Inserm U 1127, CNRS UMR 7225, Institut du Cerveau et de la Moelle épinière et Centre d'Investigation Clinique Pitié Neurosciences CIC-1422, Paris, France
3. , Fondation Jean Dausset-CEPH, Paris, France
4. Institute of Neuroanatomy, Eberhard Karls University Tübingen, Tübingen, Allemagne
5. Movement Disorders Unit, Department of Neurology, Istanbul Faculty of Medicine, Istanbul University, Istanbul, Turquie
6. , Service de neurologie CHU Mustapha, Alger, Algérie
7. Inserm U946, Université Paris Diderot , Institut Universitaire d'Hématologie, Paris, France
8. Laboratory of Neurogenetics, National Institute on Aging, Bethesda, Etats-Unis
9. Sorbonne Universités, UPMC Univ Paris 06 UMR S 1127, Inserm U 1127, CNRS UMR 7225, Institut du Cerveau et de la Moelle épinière et AP-HP, Hôpital de la Salpêtrière, Department of Genetics and Cytogenetics, Paris, France

**Mots clefs :** Maladie de Parkinson; transmission récessive; début précoce; séquençage d'exome; consanguinité; gènes candidats

#### Résumé :

La maladie de Parkinson (MP) à transmission autosomique récessive et à début précoce est cliniquement et génétiquement hétérogène : des mutations dans 3 gènes, *PARK2*, *PINK1* (*PARK6*), et *DJ-1* (*PARK7*), conduisent à des phénotypes similaires à la MP idiopathique avec une bonne réponse au traitement dopaminergique. Des mutations dans d'autres gènes, *ATP13A2* (*PARK9*), *PLA2G6* (*PARK14*), *FBXO7* (*PARK15*), *DNAJC6* (*PARK19*), and *SYNJ1* (*PARK20*) sont la cause d'une maladie plus sévère, avec réponse faible à la levodopa et d'autres signes cliniques comme des dystonies, troubles cognitifs, anomalies neurocomportementales, signes pyramidaux, ophtalmoparésie, et dysautonomie.

Chez environ 50% des cas familiaux de MP à transmission récessive et début précoce, aucune mutation dans ces gènes n'a été détectée, suggérant une grande hétérogénéité génétique avec l'implication d'un, ou plus probablement, plusieurs autres gènes.

Pour identifier d'autres gènes impliqués dans la MP, nous avons sélectionné 140 familles ou cas isolés de MP à début précoce (< 55 ans), avec une consanguinité établie ou suspectée, et pour lesquels les gènes *PARK2*, *PINK1*, *PARK7*, and *LRRK2* (mutation G2019S) ont été exclus. Nous avons génotypé des marqueurs génétiques de type SNP dispersés sur le génome entier afin de déterminer des régions d'homozygotie et de rechercher de potentiels réarrangements génomiques. Puis, nous avons séquençé l'exome de 62 cas avec consanguinité avérée (coefficient de consanguinité  $F \neq 0$ ). Nous avons priorisé les variations homozygotes qui 1) altèrent la fonction de la protéine (décalage du cadre de lecture, apparition d'un codon stop ou défauts d'épissage) ; 2) sont rares (fréquence allélique < 1% dans les bases de données publiques) ; 3) sont partagées par des fratries atteintes si existantes; 4) sont à l'état hétérozygote chez les parents et/ou hétérozygote ou non muté chez les apparentés non atteints, si disponibles ; 5) sont situées dans les régions d'homozygotie ; et 6) sont absentes à l'état homozygote chez 530 contrôles sains européens.

Des analyses préliminaires de ces données de séquençage d'exome ont conduit à l'identification de mutations délétères dans les gènes *ATP13A2* et *FBXO7* chez 2 paires de germains atteints et ont généré une liste de 32 nouveaux gènes candidats. La validation fonctionnelle des meilleurs candidats est en cours.

L'identification de nouveaux gènes impliqués dans la MP à transmission autosomique récessive et à début précoce améliorera le diagnostic et le conseil génétique pour les patients et leur famille. Cela permettra également de mieux comprendre les mécanismes neurodégénératifs en cause dans la MP et de développer des traitements innovants, basés sur des mécanismes cellulaires, pour guérir ou ralentir la progression de la maladie.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

**#2787 : Caractérisation d'un variant rare de la butyrylcholinestérase (c.1240C>T, p.Arg386Cys) associé à une curarisation prolongée.**

### Auteurs :

Hervé DELACOUR (1), Andréa PLUCANO -- PERDRIAT (1), XAVIER BRAZZOLOTTO (2), Franck CEPPA (1), Florian NACHON (2)

1. , , Saint Mandé, France
2. , , Brétigny sur Orge, France

**Mots clefs :** Butyrylcholinestérase, curarisation prolongée, p.Arg386Cys

### Résumé :

La butyrylcholinestérase (EC 3.1.1.8, BChE) est impliquée dans le métabolisme de la succinylcholine et du mivacurium, deux curares d'action rapide et brève ( $t_{1/2} < 10$  minutes) utilisés pour l'intubation en séquence rapide de patients à l'estomac plein ou à risque d'inhalation. Un déficit en BChE (OMIM 177400) entraîne une augmentation de la demi-vie de ces curares conduisant à un bloc neuromusculaire prolongé. Nous rapportons la caractérisation d'un variant rare de la BChE (c.1240C > T, p.Arg386Cys, COSM4115, NM\_000055.2) dont la présence à l'état homozygote a entraîné une curarisation prolongée (durée 04 h) chez une femme de 50 ans. Une mesure de l'activité enzymatique plasmatique, des études électrophorétiques, la synthèse de recombinants et une modélisation par dynamique moléculaire ont été menées afin d'identifier comment cette mutation induisait ce déficit.

L'activité BChE plasmatique est effondrée ( $|BChE| < 100$  U/L, valeurs physiologiques 5 320 – 12 920 U/L), aucune protéine n'étant mise en évidence dans le plasma de la patiente lors des études électrophorétiques (détection de l'activité sur gel et analyse en western blot). Aucune activité enzymatique n'est observée avec le recombinant p.Arg386Cys comparé à la protéine sauvage. La modélisation par dynamique moléculaire n'ayant démontré aucune dénaturation spontanée du mutant sur une durée de 20ns, l'hypothèse est que celui-ci n'adopte pas une conformation active lors de sa synthèse.

L'ensemble des résultats suggère une absence de maturation du variant c.1240C > T, empêchant la sécrétion et aboutissant à un déficit profond en butyrylcholinestérase. Ce variant appartient donc à la catégorie des variants silencieux (c-à-d. dépourvu d'activité enzymatique) de la BChE.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #2788 : Nouvelles mutations post-zygotiques de la voie RAS-MAPK dans les naevus sébacés

#### Auteurs :

Paul Kuentz (1), Jean-Baptiste Rivière (1), Thibaud Jouan (1), Jeanne Amiel (2), Olivia Boccara (3), Sylvie Fraitag (4), Marie Gonzales (5), Cyril Mignot (6), Laurence Faivre (7), Pierre Vabres (8)

1. Laboratoire de génétique chromosomique et moléculaire, Plateau Technique de Biologie, CHU Dijon, Dijon, France
2. Laboratoire de Génétique moléculaire, APHP, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
3. Service de Dermatologie, Groupe Hospitalier Necker-Enfants Malades, Paris, France
4. Service d'Anatomie et de Cytologie Pathologiques, Groupe Hospitalier Necker-Enfants Malades, Paris, France
5. Unité de Pathologie fœtale et placentaire, Service de Génétique et d'Embryologie Médicales, Groupe Hospitalier Armand Trousseau-La Roche Guyon, Paris, France
6. Département de Génétique, UF de Génétique Clinique; Centre de Référence Déficiences Intellectuelles de Causes Rares, APHP, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France
7. Service de pédiatrie 1 et de génétique médicale, CHU Dijon, Dijon, France
8. Service de Dermatologie, CHU Dijon, Dijon, France

**Mots clefs** : Naevus sébacé, prénatal, FGFR2, phacomatose pigmentolenokératosique, BRAF

#### Résumé :

Le naevus sébacé (NS) est un naevus épidermique (NE) organoïde préférentiellement localisé en région céphalique, isolé ou associé à des atteintes cérébrales, oculaires et squelettiques dans le syndrome de Schimmelpenning (SS) où des mutations post-zygotiques de *HRAS* et *KRAS* ont été identifiées.

Chez neuf patients atteints de naevus sébacés étendus, nous avons identifié une mutation post-zygotique de *HRAS* ou *KRAS* dans 55,5 % des cas (5/9). Pour 3 des patients négatifs, un séquençage de l'exome à partir d'ADN extrait de biopsie cutanée non cultivée a été entrepris avec une stratégie en trio (ADN des parents) pour 2 patients, et cas index pour un patient (ADN des parents non disponible). Les résultats ont été concluants dans tous les cas. Il a été identifié une mutation post-zygotique activatrice de *FGFR2* (c.1144T > C ; p.Cys382Arg) chez un fœtus présentant une forme exophytique papillomateuse et pédonculée de NS. Le séquençage en profondeur de *FGFR2* a confirmé la nature post-zygotique de la mutation dans les tissus atteints de ce fœtus ainsi que d'un autre fœtus avec une présentation similaire. Nous avons identifié une mutation post-zygotique de *BRAF* (c.1803A > T ; p.Lys601Asn) sur 21 % des allèles en peau atteinte chez une patiente présentant une phacomatose pigmentokératosique (PPK), définie par l'association d'un NS et d'un naevus spilus, avec dysplasie corticale focale, retard mental, épilepsie, et un *woolly hair nevus* (WHN). Nous suggérons le terme de *phakomatosis pigmentolanokeratotica* pour cette association. Nous avons enfin identifié une mutation post-zygotique de *BRAF* (c.1799T > A ; p.Val600Glu) dans un NS avec développement secondaire d'un syringocystadénome papillifère.

La mutation p.Cys382Arg de *FGFR2* est connue en oncologie humaine comme activatrice de la voie RAS. Une mutation paralogue de *FGFR3* (p.Gly380Arg) a été rapportée dans les NE kératosiques non organoïdes. C'est la première fois que la mutation activatrice p.Lys601Asn de *BRAF* est identifiée à l'état post-zygotique en dehors du cancer. Des mutations germinales du même acide aminé (p.Lys601Gln et p.Lys601Ile) ont été associées au syndrome cardiofaciocutané où les manifestations cliniques sont différentes de celles de notre patiente. Précédemment, des mutations de *HRAS* ont été associées à la PPK et au WHN.

En conclusion, il existe des sous-groupes de NS, distincts à la fois sur le plan clinique et moléculaire des NS avec mutation de *HRAS* ou *KRAS*, néanmoins associés à des mutations en mosaïque d'autres gènes de la voie RAS, identifiées par séquençage de l'exome avec ADN extrait d'une zone atteinte des cas index, confirmant l'intérêt de cette approche.

### #2789 : MicroARN 146a et dysfonctionnement astrocytaire dans les troubles du spectre autistique

#### Auteurs :

Julien Fregeac (1), Lam-son Nguyen (1), Anne Philippe (1), Laurence Colleaux (1)

1. , Institut Imagine, Paris, France

**Mots clefs :** Autisme, microARN, fonctions astrocytaires

#### Résumé :

Les troubles du spectre autistique (TSA) consistent en un ensemble de désordres neurodéveloppementaux. Ces troubles sont caractérisés par un défaut d'interaction sociale et de communication ainsi que par des comportements répétitifs et stéréotypés. L'étiologie du TSA est complexe et de nombreux arguments plaident en faveur de l'interaction entre des événements génétiques et épigénétiques et des facteurs environnementaux. Les microARNs (miRs) sont de petits ARNs non codant qui régulent négativement les ARNs messagers (ARNm). Les miRs entraînent la dégradation des ARNm ou empêchent leur traduction. Ils sont impliqués dans la majorité des fonctions physiologiques et sont particulièrement importants durant le développement cérébral.

Notre groupe a identifié une signature de quatre miRs dont l'expression est dérégulée dans des cas de TSA. L'un d'entre eux, *miR-146a*, est surexprimé dans les cellules de patients TSA. De façon intéressante, nous avons montré que ce miR est également surexprimé chez des patients atteints de déficience intellectuelle et sa surexpression a par ailleurs été rapportée dans des cas d'épilepsie. Ce miR est exprimé dans le cerveau et conservé chez la souris. Afin de mieux comprendre le rôle de ce miR dans le développement cérébral, nous avons produit des constructions lentivirales induisant la surexpression du *miR-146a* et les avons utilisées pour infecter des cultures de cellules primaires de souris sauvages. Nous avons ainsi montré que la surexpression du *miR-146a* dans des neurones altère l'arborisation dendritique. Nous étudions actuellement l'effet de la surexpression de *miR-146a* sur la fonction d'astrocytes primaires de souris.

Grâce au système d'analyse cellulaire en temps réel xCELLigence (ACEA Biosciences), nous avons observé une diminution significative des capacités de prolifération des astrocytes surexprimant *miR-146a*. Le glutamate est le principal neurotransmetteur exciteur du système nerveux central. Cependant, à haute concentration dans le milieu extracellulaire, il est toxique pour les neurones. Une des fonctions principales des astrocytes est la recapture du glutamate libéré dans la synapse pour limiter son temps et son volume d'action sur les récepteurs pré-et post-synaptiques et éviter tout phénomène d'excitotoxicité. À l'aide de glutamate radiomarqué, nous avons démontré que les astrocytes surexprimant *miR-146a* recapturent significativement plus de glutamate que les astrocytes contrôles. Des travaux sont actuellement en cours pour tester plusieurs hypothèses quant aux mécanismes physiologiques sous-jacents.

Nos résultats démontrent que la surexpression du *miR-146a* altère les fonctions astrocytaires et confirment l'hypothèse de l'importance du dysfonctionnement astrocytaire dans la survenue du TSA. Ces résultats suggèrent également un rôle de *miR-146a* et du dysfonctionnement glial dans d'autres pathologies neurodéveloppementales.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

**#2791 : Mutation constitutionnelle du gène EGFR associée à un phénotype périnatal sévère: hypothèse de gènes modificateurs.**

### Auteurs :

Claire Navarro (1), Jérémie Mortreux (2), Jean-Pierre Desvignes (1), Nathalie Da Silva (1), Nathalie Jonca (3), Sahar Elouaj (1), Sylviane Olschwang (1), Agnès Sartor (4), Pierre Cau (2), Jacqueline Aziza (5), Nicolas Lévy (2), Nicolas Chassaing (6), Annachiara De Sandre-Giovannoli (2)

1. , Aix Marseille Université, INSERM, GMGF UMR\_S 910, 13385, Marseille, France
2. Département de Génétique Médicale et Biologie Cellulaire, Hôpital d'Enfants la Timone, Aix Marseille Université, INSERM, GMGF UMR\_S 910, 13385, Marseille, France
3. , UDEAR, UMR 5165 CNRS – 1056 INSERM - Université Toulouse III, Toulouse, France
4. Service d'échographie et de diagnostic anténatal, Hôpital Paule-de-Viguier, , Toulouse, France
5. Anatomie et cytologie pathologiques, Pôle IUC Oncopole CHU , Institut Universitaire du Cancer de Toulouse – Oncopole, , Toulouse, France
6. Service de génétique médicale, CHU de Toulouse ; Inserm U1056 ; EA-455 UPS III, , Toulouse, France

**Mots clefs :** EGFR, PTPN12, gène modificateur, pathologie périnatale

### Résumé :

Nous rapportons l'exploration génétique et fonctionnelle d'une famille consanguine présentant 3 enfants atteints d'un syndrome très sévère entraînant le décès en période périnatale (1 naissance à 31 SA et décès à J3 dû à défaillance multiviscérale sur infection, 1 décès *in utero* à 30 SA, 1 naissance à 28 SA et décès à J4 suite à perforation digestive). Le contexte clinique anténatal était évocateur d'un syndrome de Barter (RCIU, hydramnios important et récidivant au 3ème trimestre de la grossesse). Après exclusion des 4 gènes impliqués dans cette pathologie, un syndrome progéroïde néonatal a été suspecté et des mutations dans les gènes *LMNA* et *ZMPSTE24* ont également été exclues. L'ACPA n'a pas retrouvé d'anomalies. Un séquençage d'exome a donc été réalisé chez les 3 cas et leurs parents dans un cadre de recherche.

Dans l'hypothèse d'une transmission récessive de la pathologie, l'analyse bioinformatique a identifié 2 variants homozygotes communs aux 3 cas et hétérozygotes chez les parents. De celles-ci, un seul variant se trouve en région codante : *EGFR* (NM\_005228.3) : c.1283G > A, prédit pour induire le changement d'acide aminé suivant : p.Gly428Asp, dans le domaine extracellulaire de liaison aux ligands du récepteur.

Tandis que des mutations somatiques activatrices du gène *EGFR* sont décrites dans un grand nombre de cancers, notamment pulmonaires, à ce jour une seule mutation germinale a été rapportée récemment à l'état homozygote chez un enfant, issu d'une famille polonaise consanguine, présentant une atteinte cutanée, intestinale et pulmonaire sévère, responsable du décès à 2,5 ans (Campbell, J Invest Dermatol. 2014).

La mutation homozygote identifiée dans *EGFR* est identique dans les deux familles, cependant, chez les 3 patients que nous rapportons, l'atteinte clinique est relativement homogène et beaucoup plus sévère que celle du cas publié, suggérant l'implication d'un ou plusieurs autres variants.

Le deuxième variant commun à nos 3 cas est situé dans la région 3' UTR du transcrit principal *PTPN12*, cible de plusieurs miRNA. De façon intéressante, *PTPN12* est impliqué dans la régulation d'*EGFR* (inhibition) et se situe avec celui-ci sur le chromosome 7 dans une région homozygote par descendance chez les 3 cas, renforçant l'hypothèse de son implication dans la détermination du phénotype des patients.

Des études fonctionnelles réalisées sur la forme mutée d'*EGFR* ainsi que les études réalisées sur des tissus post-mortem d'un des 3 cas, indiquent une sous-expression et une localisation subcellulaire altérée du récepteur muté suite à la stimulation par l'EGF, en accord avec l'étude publiée par Campbell. Des études complémentaires sont en cours pour étayer l'hypothèse d'un effet modificateur du variant *PTPN12* identifié dans cette famille.

Notre hypothèse de travail suppose donc un effet pathogène majeur pour la mutation *EGFR*, modulée par des gènes modificateurs, probablement dans le sens de l'aggravation, chez nos patients par rapport au cas polonais.

### #2793 : Nouvelle délétion dans le gène WDR45 chez un garçon avec déficience intellectuelle

#### Auteurs :

Sylvia REDON (1), Caroline BENECH (2), Sacha SCHUTZ (3), Aurore DESPRES (3), Paul GUEGUEN (3), Pauline LE BERRE (3), Cédric LE MARECHAL (3), Sylviane PEUDENIER (3), Philippe PARENT (3), Claude FEREC (3)

1. Laboratoire de génétique moléculaire, CHRU MORVAN, Brest, France
2. Etablissement Français du sang, CHRU Morvan, Brest, France
3. Laboratoire de génétique moléculaire, CHRU Morvan, Brest, France

**Mots clefs :** WDR45, exome, déficience intellectuelle, neurodégénérescence

#### Résumé :

Nous rapportons le cas d'un jeune homme né en 1999 présentant une encéphalopathie avec retard psychomoteur global, atrophie optique, agénésie du corps calleux et ataxie. A 9 ans, une épilepsie a été évoquée à l'origine d'une hospitalisation. Celle-ci s'est traduite par une rupture de contact, rotation des yeux, de la tête, hypersalivation, hypotonie sans signe électrique évocateur. A 10 ans, d'autres épisodes ont été observés en IME sous forme d'hypotonie et de déviation des yeux. A noter que la maman n'évoque aucun épisode au domicile, tout au plus, un état statique pendant quelques minutes sans perte de contact, ni mouvements anormaux. Ces périodes n'interrompant pas ses activités. Depuis peu, les médecins notent une aggravation sur le plan neuro-orthopédique.

Le bilan étiologique classique est revenu normal, à savoir, caryotype standard, recherche de Prader-Willi, dosage des hormones thyroïdiennes, recherche de CDG syndrome, échographie cardiaque, PEV altérés, recherche d'Angelman. En 2006, l'IRM montre une atrophie des nerfs optiques et une atrophie cérébello-vermienne.

L'analyse par CGH-array (Agilent Technologies, 2x105K) réalisée en 2009 a montré la présence de deux CNVs, chacun hérités de l'un des parents ce qui nous avait amené, en plus des données de la littérature, à écarter l'implication de ces variants dans le phénotype de notre patient. Il s'agit d'une délétion hétérozygote 17q12, de 80 kb contenant les gènes *SLFN11*, *SLFN12*, *SLFN13* (schlafen family member 11, 12 et 13) transmise par sa maman et une délétion hétérozygote 19q13.41, de 500 kb emportant le gène *ZNF765* d'origine paternelle.

Dans un second temps, une analyse des exomes du trio a été proposée avec la stratégie Ampliseq, séquençage par Proton Ion Torrent (Life Technologies) et interprétation par le logiciel SeqNext. Les données ont été filtrées sur le panel national DI44 gènes (filiales AnDDI rares et DéfiScience). Cette démarche a permis de mettre en évidence une délétion hémizygote de 3pb apparue *de novo* sur le gène *WDR45* (WD repeat domain 45) situé sur le chromosome X et validée par Sanger. Cette délétion c.752\_754del (p.Ser251del) n'a jamais été décrite et touche l'exon 11 du gène. Les mutations de *WDR45* sont généralement retrouvées chez des femmes, suggérant des mutations létales chez les hommes.

Des anomalies du gène *WDR45* ont été rapportées dans les encéphalopathies statiques de l'enfant avec neurodégénérescence chez l'adulte (BPAN) et neurodégénérescence avec surcharge cérébrale en fer type 5 (NBIA5). Ces pathologies sont caractérisées par un retard de développement dans l'enfance évoluant progressivement en maladie de Parkinson, dystonie, démences. Les IRM montrent une surcharge en fer et parfois une atrophie cérébrale et cérébelleuse que nous retrouvons ici.

Ce cas clinique est un nouvel exemple de l'intérêt de l'analyse d'exomes sur trios couplée à l'étude séquentielle du panel de gènes impliqués dans les DI qui va prochainement être mis en place.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #2797 : Inhibition de l'autophagie induite par la surexpression combinée de 3 microARNs : rôle dans la physiopathologie de la Progeria de Hutchinson-Gilford (HGPS)

#### Auteurs :

Jennifer ENRICH-BENGOA (1), Sophie PERRIN (2), Elise KASPI (2), Maxime MONDOLONI (2), Andrée ROBAGLIA-SCHLUPP (2), Diane FRANKEL (1), Nicolas LEVY (2), Annachiara DE SANDRE-GIOVANOLLI (2), Pierre CAU (2), Patrice ROLL (1)

1. INSERM UMR\_S910 - , Faculté de Médecine, Aix-Marseille Université, MARSEILLE, France
2. INSERM UMR\_S910 - "Génétique Médicale et Génomique Fonctionnelle", Faculté de Médecine, Aix-Marseille Université, MARSEILLE, France

**Mots clefs :** Progeria, HGPS, microARN, autophagie, physiopathologie

#### Résumé :

**La Progeria de Hutchinson-Gilford** (OMIM #176670) est une maladie génétique extrêmement rare caractérisée par un vieillissement accéléré aboutissant au décès précoce des patients vers l'âge de 14 ans. Elle est due à l'accumulation dans le noyau de la plupart des cellules (à l'exception de quelques types cellulaires) d'une protéine toxique appelée progérine, conduisant à des anomalies nucléaires morphologiques et fonctionnelles avec anomalies d'expression génique et potentiellement de microARNs (miARNs).

Afin d'évaluer le rôle des miARNs dans la Progeria, nous avons réalisé une analyse miRNome sur des fibroblastes dermiques à passages précoce (P12 +/-2) et tardif (P22 +/-2) en comparant 5 patients d'âges différents à 5 individus sains. Parmi les 29 microARNs identifiés comme dérégulés (15 surexprimés, 14 sous-exprimés), trois étaient connus comme ciblant des acteurs centraux de l'autophagie (Beclin-1, ATG4C et ATG5), décrite dans la littérature comme une voie possible de dégradation de la progérine. Notre hypothèse est que la surexpression combinée de ces 3 miARNs inhibiteurs de l'autophagie pourrait agir comme un « frein » de cette voie, entraînant une diminution de la dégradation de la progérine. Ce mécanisme conduirait à terme à l'installation d'un cercle vicieux pouvant être au centre de la physiopathologie de la maladie. L'étude de fibroblastes dermiques de patients a conduit à l'identification par cytométrie en flux d'une inhibition de cette voie chez un patient âgé de 14 ans, un contingent de cellules présentant une absence totale d'autophagie. La co-transfection des 3 antagonomiRs spécifiques entraînait dans ces cellules une augmentation du niveau d'autophagie, associée à une clairance partielle de la progérine.

Ces résultats préliminaires confirment le **rôle majeur de la surexpression de ces 3 miARNs dans la physiopathologie** de la progeria et ouvrent des perspectives intéressantes pour une meilleure connaissance de cette maladie, et également peut-être du vieillissement physiologique au cours duquel de faibles quantités de progérine sont également produites. Ils offrent également des perspectives thérapeutiques particulièrement encourageantes dans cette maladie au pronostic sombre, en identifiant de nouvelles cibles potentielles.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #2804 : Impact des variants de CYP2U1 dans la paraplégie spastique héréditaire SPG56 sur le métabolisme de l'acide arachidonique.

#### Auteurs :

Christelle Durand (1), Laura Dhers (2), Christelle Tesson (3), Laetitia Fouillen (4), Stephanie Jacqueré (1), Isabelle Coupry (1), Frederic Darios (5), Giovanni Benard (1), Claire Pujol (5), Didier Lacombe (1), Alexandra Durr (5), Filippo Santorelli (6), Jean Luc Boucher (2), Nicolas Pietrancosta (2), Daniel Mansuy (2), Giovanni Stevanin (3), Cyril Goizet (1)

1. Laboratoire Maladies Rares : Génétique et Métabolisme , EA4576, Université de Bordeaux, Bordeaux, France
2. Laboratoire de Chimie et Biochimie Pharmacologiques et Toxicologiques, UMR 8601 CNRS, Université Paris Descartes, Paris, France
3. Laboratoire de Neurogénétique de l'Ecole Pratique des Hautes Etudes, Institut du Cerveau et de la Moelle épinière, Paris, France
4. Plateforme Métabolome, Laboratoire de Biogenèse Membranaire, UMR 5200CNRS, Université de Bordeaux, Bordeaux, France
5. INSERM/UPMC U1127, CNRS UMR7225, Institut du Cerveau et de la Moelle épinière, Paris, France
6. IRCCS Stella Maris Foundation, , Calambrone, Italie

**Mots clefs :** PSH, CYP2U1, métabolisme, lipides

#### Résumé :

**Les Paraplégies Spastiques Héréditaires (PSH)** sont des maladies neurodégénératives héréditaires caractérisées par une spasticité et une faiblesse progressive des membres inférieurs. L'identification de nombreux gènes impliqués dans les PSH a révélé l'importante hétérogénéité génétique de ces pathologies, et a permis de décrire plusieurs mécanismes physiopathologiques incluant les anomalies du transport axonal, les anomalies du trafic intracellulaire, les dysfonctions mitochondriales et plus récemment les altérations du métabolisme lipidique.

**La PSH de type 56 (SPG56)** dans laquelle le gène *CYP2U1* a récemment été impliqué, est une PSH de forme complexe de transmission autosomique récessive. **CYP2U1** est un cytochrome P450 qui joue un rôle important dans la voie de signalisation de l'acide arachidonique (AA) qu'il oxyde en deux composés bioactifs, les 19- et 20-HETE. Nous avons pu observer plusieurs types de variants: des variants tronquants (p.L21Wfs\*19<sup>1</sup>), des variants faux-sens homozygotes (p.D316V<sup>1</sup>; p.E380G<sup>1</sup> et p.C490Y<sup>2</sup>) ou hétérozygotes composites (p.C262R associés à p.R488W<sup>1</sup>; c.1288+1G > A associé à deux variants en cis p.G115S et p.R384I<sup>2</sup>). Afin d'évaluer le rôle physiopathologique de ces variants, en particulier pour les variants faux-sens, nous avons développé un modèle cellulaire permettant de mesurer l'activité enzymatique de la protéine sauvage ou mutée. Des cellules HEK293T ont été transfectées de façon transitoire par le vecteur d'expression pCS<sup>2+</sup> contenant l'ADNc de CYP2U1 sauvage ou muté. Après 48h d'expression, les extraits protéiques issus de ces cellules sont incubés en présence d'AA, puis une quantification du 19- et 20-HETE est réalisée par LC/MS. Nous montrons ainsi que certains des variants retrouvés chez les patients entraînent une perte de l'activité enzymatique. Des expériences de spectroscopie UV-visible montrent également l'absence du complexe Fe<sup>II</sup>-CO caractéristique de CYP2U1 dans ces lysats cellulaires. Enfin, des expériences de modélisation moléculaire ont permis de localiser les variants sur la protéine et de rendre compte de leurs effets sur la structure et la stabilité de CYP2U1. Nos résultats montrent que les variants affectant la fixation de l'hème et l'accessibilité du substrat AA au site actif peuvent être considérés comme des mutations délétères responsables de SPG56 chez les patients. Au cours de ce travail nous avons également montré qu'un des variants étudiés (p.E380G) n'a aucun effet sur l'activité enzymatique et peut donc être interprété comme un polymorphisme. Ces résultats soulignent l'importance de réaliser des études fonctionnelles pour valider le caractère pathogène des variants faux-sens qui sont souvent sujets à caution. Ce travail a ainsi permis de mettre au point un protocole de validation des variants faux-sens identifiés chez les patients SPG56.

1. C. Tesson *et al.*, *Am J Hum Genet* **91**, 1051 (Dec 7, 2012).
2. Données non publiées

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #2808 : Etude moleculaire de 14 familles présentant un syndrome de PERRAULT: corrélations génotype/phénotype

#### Auteurs :

sandrine marlin (1), justine lerat (2), arnold munnich (3), natalie loundon (4), sophie christin maitre (5), didier lacombe (6), cyril goizet (6), cecile rouzier (7), lionel van maldegem (8), souad gherbi (9), philippe Touraine (10), isabelle mosnier (11), jean paul bonnefont (12), laurence jonard (13)

1. CRMR Surdités Génétiques, Service de Génétique Médicale, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France
2. CRMR Surdités Génétiques, Laboratoire de Génétique Moléculaire, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France
3. Génétique Médicale, Hôpital Necker Enfants Malades, paris, France
4. ORL, Hôpital Necker Enfants Malades, paris, France
5. Service d'endocrinologie, hôpital saint antoine, paris, France
6. Génétique Médicale, hôpital Pellegrin, bordeaux, France
7. Génétique Médicale, hôpital l'archet 2, nice, France
8. Génétique Médicale, chu, besancon, France
9. CRMR Surdités Génétiques, Service de Génétique Médicale, Hôpital Necker Enfants Malades, paris, France
10. Service d'endocrinologie, Hôpital Pitié Salpêtrière, Paris, France
11. ORL, Hôpital Pitié Salpêtrière, Paris, France
12. Laboratoire de Biologie moléculaire, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France
13. CRMR Surdités Génétiques, Laboratoire de Génétique Moléculaire, Hôpital Necker Enfants Malades, paris, France

**Mots clefs** : surdité, dysgénétique, syndrome de Perrault, NGS

#### Résumé :

Le syndrome de Perrault est une pathologie autosomique récessive caractérisée par l'association d'une surdité neurosensorielle bilatérale à une dysgénésie gonadique. Cliniquement on distingue deux sous types en fonction de la présence ou non de signes neurologiques en particulier d'une ataxie. La prévalence de ce syndrome est probablement sous évaluée en raison de la découverte secondaire de l'insuffisance ovarienne et de l'absence de signe associé à la surdité chez les garçons.

Récemment 5 gènes différents : C10ORF2, CLPP, HARS2, HSD17B4, and LARS2 ont été impliqués dans le syndrome de Perrault. Un sixième gène candidat a été suggéré : LONP1. L'ensemble des protéines codées ont une fonction dans le métabolisme mitochondrial.

Grâce à une technique de NGS, nous avons analysé les 5 gènes connus et le gène candidat dans une cohorte de 17 patients (14 familles) présentant un tableau clinique évoquant un syndrome de Perrault, dont 6 présentant le sous type neurologique. On retrouve une consanguinité dans 6/14 familles. Il s'agit de la première étude de l'ensemble des gènes impliqués dans le syndrome de Perrault dans une cohorte de patients. Nous avons mis en évidence une mutation bi-allélique chez 6 familles et une mutation hétérozygote chez 2 familles supplémentaires. LARS2 semble le gène le plus souvent impliqué et nous n'avons pas trouvé de mutation dans le gène candidat LONP1. La même mutation de HARS2 a été retrouvée à l'état homozygote chez des patients non apparentés issus de la même région du Maroc suggérant un effet fondateur. 8 des 10 mutations retrouvées dans notre étude n'avaient pas été décrites antérieurement. Grâce à nos résultats et aux données de la littérature ( 18 mutations, 31 patients, 12 familles), nous avons retrouvé des corrélations entre la présence des manifestations neurologiques et les mutations dans les gènes C10ORF2 et HSD17B4 ; et entre une atteinte auditive préférentielle des fréquences moyennes (courbe en U) et les mutations de LARS2. Il n'a pas été mis en évidence de corrélation entre le génotype et le phénotype ovarien. On peut noter que certaines patientes ont pu avoir des enfants. Notre étude n'a pas permis de confirmer la présence d'azoospermie chez les hommes porteurs de mutations de C10ORF2 et HSD17B4. L'absence de mutation dans les 6 gènes étudiés pour 8 familles pourrait être due soit à une association fortuite entre surdité et dysgénésie ovarienne dans les cas sporadiques, soit à l'existence d'autres gènes impliqués. En faveur de cette dernière hypothèse, une étude de liaison d'une grande famille de patients a permis d'exclure les 6 loci connus.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

**#2809 : A novel CASR mutation in a Tunisian FHH/NSHPT family associated with a mental retardation**

### **Auteurs :**

Sana SFAR (1), Ahlem Afaya Bzéouich<sup>1</sup> (2), Emna Kerkeni (1), Sofiane Bouaziz (1), Mohamed Fadhel Najjar (3), Hassen Ben Cheikh (1), Kamel Monastiri (4)

1. Research unity UR12ES10, Faculty of Medicine of Monastir, University of Monastir, Tunisia, Monastir, Tunisie
2. Research unity UR12ES10, Faculty of Medicine of Monastir, University of Monastir, Tunisia, Monastir, Tunisie
3. Department of Biochemistry, EPS F Bourguiba of Monastir, Monastir, Tunisia, Monastir, Tunisie
4. Department of Intensive Care and Neonatal Medicine, Monastir, Tunisia, EPS F Bourguiba of Monastir, Monastir, Tunisia, Monastir, Tunisie

**Mots clefs :** Neonatal severe hyperparathyroidism (NSHPT) , Familial hypocalciuric hypercalcemia, Mental retardation, Calcium-sensing receptor (CASR), Mutation analysis

### **Résumé :**

The calcium-sensing receptor (CASR), a plasma membrane G-protein coupled receptor, is expressed in parathyroid gland and kidney, and controls systemic calcium homeostasis. Inactivating CASR mutations have previously been identified in patients with familial hypocalciuric hypercalcemia (FHH) and neonatal severe hyperparathyroidism (NSHPT). The aim of our study is to determine the underlying molecular defect of FHH/NSHPT disease in a consanguineous Tunisian family. Mutation screening was carried out using RFLP-PCR and direct sequencing. We found that the proband is homozygous for a novel 15bp deletion in the exon 7 (c.1952\_1966del) confirming the diagnosis of NSHPT. All the FHH members were found to be heterozygous for the novel detected mutation. The mutation, p.S651\_L655del, leads to the deletion of 5 codons in the second transmembrane domain of the CASR which thought to be involved in the processes of ligand-induced signaling. This alteration was associated with the evidence of mental retardation in the FHH carriers and appears to be a novel inactivating mutation in the CASR gene. Our findings provide additional support for the implication of CASR gene in the FHH/NSHPT pathogenesis.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #2812 : Association génétique entre le polymorphisme CT60A/G du gène CTLA4 et la survenue de la spondylarthrite ankylosante dans la population algérienne

#### Auteurs :

Chahinez Amira DAHMANI (1), Ahmed BENZAOUI (2), Wefa BOUGHRARA (1), Fatima SEDIKI (1), Elisabeth PETIT TEIXEIRA (3), Abdallah BOUDJEMA (1)

1. , Université des sciences et de la technologie d'Oran Mohamed Boudiaf, ORAN, Algérie
2. Rheumatology service, university hospital center of Oran, ORAN, France
3. Laboratoire Européen de recherche pour la polyarthrite rhumatoïde GenHotel- 3886, Université d'Evry Val d'Essonne, Paris, France, Paris, France

**Mots clefs :** Spondylarthrite Ankylosante, génétique, CTLA4, CT60 A/G, Algérie

#### Résumé :

Numerous studies have shown that polymorphism +49 A/G of the CTLA4 gene is strongly implicated in the development of ankylosing spondylitis (AS). Other polymorphisms of this gene are candidates that may have an additional effect in susceptibility to AS.

We searched for the first time the association of CT60 A/G polymorphism located in the 3'UTR region of the CTLA4 gene with the development of SA in the Algerian population.

The study involved 81 patients with AS recruited at the rheumatology service and 128 healthy individuals unrelated. Genotyping was performed by real-time PCR (Taqman®). Analysis of the results was carried out by IBM.SPSS.Statictis® software.

The distribution of allele frequencies showed a significant association between the G allele of the polymorphism CT60 A/G and the occurrence of SA ( $p= 0.001$ , OR= 0.5-fold (95% CI 0.34-0.77)). A recent study showed that the major allele A is associated with the AS in Chinese population unlike our population (**Nai-Guo Wang et al, 2015**). This could be explained by the high frequency of the A allele in Chinese population in general and that of the AS also.

Our data would suggest that the 3'UTR region of the CTLA4 gene could have an impact on the development of SA in the Algerian population. These results need to be confirmed on a larger sample.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #2818 : Etude moléculaire des gènes impliqués dans l'ostéogenèse imparfaite par séquençage nouvelle génération

#### Auteurs :

sophie monnot (1), caroline michot (1), sophie rondeau (1), genevieve baujat (1), sofia dos santos (1), coralie haudry (1), arnold munnich (1), jean-paul bonnefont (1), valérie cormier-daïre (1)

1. service de génétique médicale, hôpital necker enfants malades, paris, France

**Mots clefs :** Ostéogenèse imparfaite, NGS, Séquençage haut débit

#### Résumé :

L'ostéogenèse imparfaite (OI) regroupe un ensemble de pathologies caractérisées par une fragilité osseuse. Il existe une importante hétérogénéité clinique allant d'atteintes fœtales létale à des formes modérées de l'adulte. A ce jour, 17 gènes ont été impliqués dans l'OI dont 3 gènes, *COL1A1*, *COL1A2*, *IFITM5*, responsables d'OI de transmission autosomique dominante, 13 gènes responsables d'OI autosomiques récessives et un gène, *PLS3*, responsable d'OI récessive liée à l'X. L'importance du diagnostic moléculaire pour le conseil génétique et le caractère long et fastidieux du séquençage Sanger des nombreux gènes potentiellement impliqués, ont justifié la mise au point d'un panel de reséquençage ciblé des 17 gènes d'OI. Ce panel inclut également 3 gènes impliqués dans des diagnostics différentiels d'OI : hypophosphatasie, ostéocraniosténose et syndrome de Stüve-Wiedemann.

Toutes les demandes d'analyse moléculaire dans ce contexte clinique sont soumises au Centre de Référence des Maladies Osseuses Constitutionnelles. Les bibliothèques sont préparées par PCR multiplex (Truseq custom amplicon library preparation, Illumina) et le séquençage moyen débit est réalisé sur un MiSeq (Illumina). Une première série de 15 échantillons témoins a permis de confirmer la fiabilité de la technique puisque toutes les mutations précédemment identifiées par séquençage Sanger ont été retrouvées. L'analyse de 79 échantillons a permis l'identification de 48 mutations (60%) dans *COL1A1* (14), *COL1A2* (14), *IFITM5* (3), *LRP5* (4), *CRTAP* (2), *LEPRE1* (2), *SERPINF1* (1), *FKBP10* (2), *SERPINH1* (2), *TMEM38B* (1), *LIFR* (1) et 2 mutations dans *FAM111A* (ostéocraniosténose). Ces résultats ont été confirmés par séquençage Sanger.

Le séquençage nouvelle génération permet l'étude simultanée de tous les gènes responsables d'OI et ainsi un gain de temps et d'argent. La difficulté principale de cette méthode repose sur l'interprétation des variants identifiés et la détermination de leur pathogénicité. De plus, l'utilisation d'un panel ciblé permet de se prémunir contre la mise en évidence de variants incidentaux. Enfin, l'absence d'identification de mutation après cette technique permet d'envisager une étude par séquençage complet de l'exome.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #2820 : Étude du polymorphisme IL-1A (C-889T) avec la Parodontite agressive dans la population Algérienne

#### Auteurs :

KAWTHER NOURELHOUDA BOUKORTT (1), Nadjia SAIDI-OUAHRANI (1), Khalida HACHMAOUI (1), Boubaker BOUKERZAZA (2), Fatima Zohra BENAÏSSA (3), Hayet DRABLA-OUAHRANI (2), Abdallah BOUDJEMA (1)

1. , , ORAN, Algérie

2. , , SETIF, Algérie

3. , , SIDIBELABESS, Algérie

**Mots clefs :** Interleukin-1, IL-1A (C-889T) aggressive periodontitis, Algerian population

#### Résumé :

Periodontal disease, also called periodontitis, is a multifactorial inflammatory disease characterized by loss of attachment periodontal ligament and alveolar bone. The periodontal inflammation is produced by periodontitis pathogenic bacteria-host genetically predisposed subjects which partly explains the clinical variability of the disease. Search of susceptibility genotype with periodontitis is the subject of several studies. It has been reported that genes affect the immunoinflammatory response of the host with a pro-inflammatory cytokine overproduction, such as interleukin-1. The latter is involved in regulating the immune response of the host and bone resorption. The purpose of the study was looking for an association between the polymorphism of (C-889T) of IL-1A gene and the risk of impairment of aggressive periodontitis in the Algerian population. A sample of 188 subject including 128 healthy controls and 60 cases were recruited for this study. Genotyping was performed by real-time PCR TaqMan. The analysis of the distribution of allele frequencies and genotypes was realised by standard statistical tests. The results showed a significant distribution of the frequency of the minor allele and genotype carrying this allele in cases who suffer from an aggressive periodontitis  $p < 0,05$ . The IL-1 genotype 2/2 (C-889T) seems to be an important risk factor for aggressive periodontitis in the population. The studied gene polymorphism appears to be associated with a predisposition to aggressive periodontitis in the population of Algeria.

**Auteurs :**

majida charif (1), Patrizia Amati-Bonneau (2), Béatrice Bocquet (3), Céline Bris (4), Pascal Reynier (4), Agathe Roubertie (3), Dominique Bonneau (4), Isabelle Meunier (3), Christian P Hamel (5), gyl ienaers (6)

1. , PREMMI, angers, France
2. , CHU Angers, Département de Biochimie et Génétique, angers, France
3. , Institut des Neurosciences de Montpellier, INSERM U1051, Montpellier, France
4. , Centre Hospitalier Universitaire, Département de Biochimie et Génétique, angers, France
5. , Centre National de Référence Maladies Rares Neurosensorielles, CHU de Montpellier, Montpellier, France
6. , PREMMI, Angers, France

**Mots clefs :** Nerf optique, mitochondries, neuropathies, nouveaux gènes

**Résumé :**

Les neuropathies optiques héréditaires (NOH) sont des pathologies mitochondriales cécitantes majoritairement non-syndromiques qui affectent la fonctionnalité et la survie du nerf optique. Selon le mode de transmission, on distingue l'Atrophie Optique Dominante (AOD) ou maladie de Kjer causée principalement par des mutations dans *OPA1* et rarement dans *OPA3* et *SPG7*, les formes récessives moins fréquentes et récemment associées à des mutations dans *TMEM126A*, *ACO2* et *RTN4IP1*, et enfin les formes mitochondriales dans le cas de la Neuropathie Optique Héréditaire de Leber, associées à des mutations du génome mitochondrial. Les trois gènes des formes récessives codent pour des protéines ayant des fonctions mitochondriales différentes, mais non impliquées dans la dynamique mitochondriales, à la différence des protéines codées par des gènes mutés dans les AOD. Bien que les principaux gènes responsables de NOH aient été découverts et leurs mécanismes physiopathologiques étudiés depuis des années, seuls environ 50% des patients ont à ce jour un diagnostic génétique. Nous avons utilisé le séquençage d'exome de patients à transmission dominante ou récessive, pour identifier les déterminants géniques des NOHs. Les résultats obtenus nous ont permis d'identifier des mutations pathogènes dans de nouveaux gènes impliqués dans la physiologie mitochondriale. Nous présenterons un bilan du démembrement génétique des NOHs et des hypothèses pathophysiologiques attendantes.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

**#2825 : Facteur V Leiden, mutation G20210A de la prothrombine, polymorphisme C677T de la méthylène tétrahydrofolate réductase et artériopathie oblitérante des membres inférieurs**

### Auteurs :

sabah Hanachi (1), Karima Sifi (1), Nacera Kerouaz (2), khalida Boudaoud (3), Daoud Roula (4), Cherifa Benlatreche (1), Noredine Abadi (1)

1. laboratoire de biochimie CHU constantine Algerie, Laboratoire de biologie et génétique moleculaire, faculté de medecine, université Constantine 3 Algerie, Constantine, Algérie
2. Service de médecine interne CHU Constantine , Laboratoire de biologie et génétique moleculaire, faculté de medecine, université Constantine 3 Algerie, Constantine, Algérie
3. Service d'endocrinologie CHU Constantine., faculté de medecine , université constantine 3, Constantine, Algérie
4. Service de médecine interne CHU Constantine , faculté de medecine , université constantine 3, Constantine, Algérie

**Mots clefs :** Artériopathie oblitérante des membres inférieurs, facteur V Leiden , mutation G20210A du facteur II, polymorphisme C677T de la MTHFR.

### Résumé :

#### Introduction

Le Facteur V Leiden, la mutation G20210A de la prothrombine et le polymorphisme C677T de la méthylène tétrahydrofolate réductase (MTHFR) sont des facteurs de risque bien établis des maladies thromboemboliques veineuses. Cependant, le rôle de ces mutations dans les maladies thrombotiques artérielles et l'athérosclérose reste controversé. Dans le présent travail, nous nous sommes proposés d'établir la relation possible entre ces trois mutations et l'artériopathie oblitérante des membres inférieurs (AOMI).

#### Patients et Méthodes

Il s'agit d'une étude cas-témoins sur une population de 112 malades (81 de sexe masculin et 31 de sexe féminin, d'âge compris entre 27 et 90 ans), hospitalisés pour AOMI au service de médecine interne du CHU Constantine (Algérie) et 190 témoins (90 de sexe masculin et 100 de sexe féminin, d'âge compris entre 21 et 85 ans) présumés sains. Une PCR en temps réel sur LightCycler (Roche Diagnostics) a été réalisée pour la détection simultanée de la mutation G1691A du facteur V ou facteur V Leiden et la mutation G20210A de la prothrombine. Le Polymorphisme C677T de la MTHFR a été déterminé par PCR-RFLP en utilisant l'enzyme de restriction HinfI.

Un consentement éclairé a été obtenu de l'ensemble des participants à l'étude.

#### Résultats:

Pour la mutation G1691A du facteur V, les fréquences génotypiques chez les patients ont été de 100 % GG (homozygote normal ou type sauvage), chez les sujets témoins 97,49 % étaient homozygotes sauvages GG et 2,6 % hétérozygotes GA, Aucun génotype homozygote muté AA n'a été retrouvé dans notre population d'étude.

La distribution des génotypes de la mutation G20210A de la prothrombine a été de 97,6% GG (homozygotes normaux) et de 2,4% GA (hétérozygotes mutés) chez les patients atteints d'AOMI et de 98,6 % GG et de 1,4 % GA chez les sujets témoins, Aucun génotype homozygote muté AA n'a été retrouvé aussi bien dans le groupe malade que dans le groupe témoin.

Les fréquences génotypiques du polymorphisme C677T de la MTHFR étaient de 43,2% CC (homozygotes normaux), 36,0 % CT (hétérozygotes mutés) et 20,7 % TT (homozygotes mutés) chez les patients et 54,6% CC, 31,7 % CT et 13,7 % TT respectivement chez les témoins . Le calcul des Odds ratio montre que ce dernier n'est pas significative pour le facteur II et le polymorphisme de la MTHFR.

#### Conclusions:

Nos résultats démontrent l'absence de relation entre l'artériopathie oblitérante des membres inférieurs et les mutations G1691A du facteur V, G20210A de la prothrombine et le polymorphisme C677T MTHFR dans la population étudiée.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #2826 : Fréquence de distribution des allèles G/A du gène bêta du fibrinogène dans une population de l'Est Algérien

#### Auteurs :

sabah Hanachi (1), Karima Sifi (1), Nacera Kerouaz (2), khalida Boudaoud (3), Daoud Roula (4), Cherifa Benlatreche (1), Noredine Abadi (1)

1. laboratoire de biochimie CHU constantine Algerie, Laboratoire de biologie et génétique moleculaire, faculté de medecine, université Constantine 3 Algerie, Constantine, Algérie
2. Service de médecine interne CHU Constantine , Laboratoire de biologie et génétique moleculaire, faculté de medecine, université Constantine 3 Algerie, Constantine, Algérie
3. Service d'endocrinologie CHU Constantine., faculté de medecine , université constantine 3, Constantine, Algérie
4. Service de médecine interne CHU Constantine , faculté de medecine , université constantine 3, Constantine, Algérie

**Mots clefs :** gène beta du fibrinogène, polymorphisme-455 G/A, prévalence, Est Algérien

#### Résumé :

##### Introduction

Le fibrinogène joue un rôle central dans l'hémostase et est également un marqueur de l'inflammation. L'augmentation de la concentration plasmatique du fibrinogène est un facteur de risque bien établie pour les maladies cardiovasculaires, et semble obéir à un double déterminisme, l'un environnemental et l'autre génétique. Le polymorphisme le plus commun qui a été étudié dans différentes populations est le polymorphisme-455G/A de la région promotrice du gène beta du fibrinogène car la synthèse de la chaîne beta est l'étape limitante dans la production de fibrinogène.

Objectif: déterminer la prévalence du polymorphisme -455G du gène bêta-fibrinogène dans une population saine de l'est Algérien.

##### Méthodes

L'étude a porté sur une population de 190 sujets sains (90 de sexe masculin et 100 de sexe féminin, d'âge compris entre 21 et 85 ans),

L'extraction de l'ADN a été réalisée par la technique au NaCl, la recherche du polymorphisme -455G/A du gène beta du fibrinogène a été faite par PCR-RFLP en utilisant l'enzyme de restriction Hae III.

Un consentement éclairé a été obtenu de l'ensemble des participants.

##### Résultats

L'âge moyen de nos sujets était de  $54.48 \pm 13.31$  ans. Nos résultats ont révélé que le génotype GG était le plus répandu (59.7%), suivi par le génotype hétérozygote GA (37.4%) et le génotype homozygote muté AA (2.9%), Les fréquences des allèles G et A étaient de 78.42 % et 21.58 % respectivement.

##### Conclusion

Selon nos résultats, notre population comparée à d'autres groupes ethniques, présente une prévalence relativement faible de l'allèle A et donc un risque réduit de maladies cardio-vasculaires et d'événements thrombotiques. D'autres études à plus grande échelle restent nécessaires pour valider nos résultats.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

#2831 : Etude du statut de MET dans une série de 47 carcinomes à cellules claires du rein métastatiques

### Auteurs :

Sarah MEDANE (1), Solène-Florence KAMMERER JACQUET (1), Alexandra LESPAGNOL (2), Frédéric DUGAY (3), Florian CABILLIC (3), Sylvia ALIX (3), Loïc QUINTON (3), Gregory VERHOEST (4), Jean MOSSER (2), Karim BENSALAH (4), Nathalie RIOUX-LECLERCQ (1), Marc-Antoine BELAUD-ROTUREAU (3)

1. Anatomie et cytologie pathologiques, CHU Rennes, Rennes, France
2. Génétique moléculaire et génomique, CHU Rennes, Rennes, France
3. Cytogénétique et Biologie Cellulaire, CHU Rennes, Rennes, France
4. Urologie, CHU Rennes, Rennes, France

**Mots clefs :** MET, carcinome à cellules claires, IHC, FISH

### Résumé :

**Introduction :** 50% des carcinomes à cellules claires du rein (ccRCC) vont développer des métastases au cours de leur évolution. Malgré l'utilisation des thérapies ciblées, la prise en charge de ces cancers reste un challenge. La voie HGF-MET est impliquée dans la prolifération cellulaire et la protéine MET surexprimée dans de nombreux cancers comme les carcinomes pulmonaires, les carcinomes de l'ovaire ou les hépatocarcinomes. L'implication de ce gène dans les ccRCC métastatiques a été peu étudiée. Nous avons analysé le statut de MET dans ces tumeurs et recherché un lien éventuel avec la résistance aux thérapies antiangiogéniques.

**Matériel et méthodes :** Les prélèvements chirurgicaux de 47 patients traités par le sunitinib pour un ccRCC métastatique ont été inclus rétrospectivement. Le statut MET de chaque ccRCC a été déterminé : recherche de mutations (NGS), nombre de copies du gène (FISH), expression protéique (IHC).

**Résultats :** Aucune mutation du gène *MET* n'a été détectée. Le nombre moyen de copies de ce gène dans les cellules tumorales était de 3.35 +/- 0.28. Le pourcentage moyen de cellules tumorales présentant une augmentation du nombre de copies de *MET* était de 34% +/- 15.4. Une surexpression de la protéine MET a été observée dans 60% (28/47) des ccRCC (MET+). Le nombre de copies de *MET* était en moyenne plus important dans les ccRCC MET+ (3.42 +/- 0.32 vs 3.24 +/- 0.16, p=0.02). Le pourcentage de cellules tumorales avec un gain du nombre de copies de *MET* était aussi plus important pour ces tumeurs (38% +/- 16.2 vs 26% +/- 10.3, p=0.0016). L'association entre nombre de copies et surexpression du gène était également significative au sein d'une même tumeur selon que l'analyse portait sur des zones MET+ ou MET- (37% +/- 15 vs 30% +/- 18, p=0.02). Enfin, bien que non significative (p=0.12), la surexpression de MET tendait à être plus fréquente dans le groupe des ccRCC résistants au sunitinib.

**Conclusion :** Cette étude a permis de montrer pour la première fois une corrélation entre l'augmentation du nombre de copies du gène *MET* et la surexpression de la protéine MET dans les ccRCC métastatiques. La surexpression de MET dans ces tumeurs pourrait être associée à une résistance aux thérapies antiangiogéniques, nécessitant des études complémentaires sur une plus large cohorte.

**Auteurs :**

Nurcan SOYSAL (1), Mélanie EYRIES (2), Suzanne VERLHAC (3), Aline TAMALET (4), Jean-Yves RIOU (5), Manuela VASILE (3), Hubert DUCOU LE POINTE (6), Florent SOUBRIER (2), Marie-France CARETTE (7), Ralph EPAUD (8)

1. Pédiatrie, Centre Hospitalier Intercommunal de Créteil, Créteil, France
2. Génétique, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France
3. Radiologie, Centre Hospitalier Intercommunal de Créteil, Créteil, France
4. Pneumologie pédiatrique, Hôpital Armand Trousseau, Paris, France
5. Radiologie, Hôpital de Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France
6. Radiologie, Hôpital Armand Trousseau, Paris, France
7. Centre de compétence Maladie de Rendu Osler, Hôpital Tenon, Paris, France
8. Pédiatrie, Hôpital Armand Trousseau, Créteil, France

**Mots clefs :** maladie de Rendu-Osler, Dépistage précoce, Malformation artério-veineuse

**Résumé :**

La maladie de Rendu Osler est une maladie héréditaire de transmission autosomique dominante. Elle est caractérisée par des épistaxis, des télangiectasies cutanéomuqueuses et des malformations artério-veineuses (MAV) viscérales. La majorité des mutations retrouvées le sont dans deux gènes codant l'endogline (*ENG*) ou *ALK1* (*ACVRL1*). En France, bien qu'il y ait maintenant consensus sur la nécessité d'un dépistage, les modalités de celui-ci fait encore débat.

**Objectifs :** 1) Proposer un protocole de dépistage et d'exploration des enfants atteints de la maladie de Rendu Osler. 2) Essayer de mieux caractériser le phénotype de cette maladie chez l'enfant.

**Méthodes :** Etude prospective ouverte multicentrique (Trousseau, Paris et CHIC, Créteil). Le dépistage était proposé chez les enfants de parents ayant une maladie de Rendu Osler et réalisé après consentement écrit. Si l'enfant était porteur de la mutation familiale, étaient réalisées une tomodensitométrie pulmonaire et une IRM cérébro-médullaire, non injectées.

**Résultats :** Entre 2008 et 2015, 99 enfants ont été dépistés, 59 étaient porteurs de l'une des 2 mutations et 49 ont pu être suivis comme proposé (dont 20 *ENG* et 29 *ACVRL1*). Parmi ceux-ci, 14 enfants présentaient une MAV pulmonaire (29%) (8 *ENG* vs. 6 *ACVRL1*,  $p=0.003$ ) dont 4 ont été embolisées (29%) (*ENG* 37% vs *ACVRL1*: 11%,  $p=0.001$ ). Aucune MAV médullaire n'a été détectée et 5 enfants présentaient une MAV cérébrales (10%) (3 *ENG* vs. 2 *ACVRL1*,  $p=0.07$ ) dont aucune n'a nécessité de traitement.

**Conclusions :** Ces données confirment l'intérêt du dépistage chez les enfants d'une famille avec maladie de Rendu Osler et suggèrent qu'un protocole non invasif est efficace pour détecter des lésions non symptomatiques. Elles confirment également que les enfants porteurs de mutation *ENG* ont des MAV pulmonaires plus fréquentes et plus sévères.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

**#2834 : Evaluation de la qualité nucléaire spermatique et du pronostic de réussite de la prise en charge par ICSI chez des hommes infertiles avec des anomalies flagellaires secondaires à une mutation dans le gène DNAH1.**

### Auteurs :

Clémentine Wambergue (1), Raoudha Zouari (2), Guillaume MARTINEZ (3), Françoise DEVILLARD (1), Sylviane Hennebicq (4), Véronique SATRE (1), Florence AMBLARD (1), Christophe Arnoult (5), Pierre RAY (6), Charles COUTTON (1)

1. Laboratoire de Génétique Chromosomique, CHU Grenoble, Grenoble, France
2. Clinique des Jasmin, Clinique des Jasmin, Tunis, Tunisie
3. Equipe "Genetics Epigenetics and Therapies of Infertility", INSERM U823, Institut Albert Bonniot, Grenoble, France
4. UF de biologie de la reproduction, Grenoble, CHU Grenoble, Grenoble, France
5. Equipe , Institut Albert Bonniot, Grenoble, France
6. UF de Biochimie Génétique et Moléculaire, CHU Grenoble, Grenoble, France

**Mots clefs :** Infertilité, génétique, oligoasthénotérazoospermie, DNAH1, flagelle, aneuploïdie, FISH, ICSI.

### Résumé :

Notre équipe a récemment identifié des mutations dans le gène *DNAH1* dans une cohorte d'hommes présentant une infertilité primaire liée à un défaut des mouvements spermatiques causés par des anomalies structurales multiples des flagelles (phénotype MMAF). L'axonème des flagelles des spermatozoïdes de ces patients présente une structure totalement désorganisée avec notamment l'absence du doublet central de microtubules (phénotype « 9+0 »). Une des options thérapeutiques chez ces hommes est de recourir à des techniques de procréation médicalement assistée (PMA), et en particulier à l'injection intracytoplasmique de spermatozoïdes (ICSI). Afin de permettre d'évaluer le pronostic de l'ICSI chez ces patients mutés dans *DNAH1*, nous avons évalué le taux d'aneuploïdie, de fragmentation et de condensation de l'ADN spermatique chez 3 patients et les résultats d'ICSI pour 7 couples.

Trois patients tunisiens avec une mutation dans le gène *DNAH1* ont bénéficié d'un recueil de spermatozoïdes. L'hybridation *in situ* en fluorescence (FISH) pour les chromosomes 13, 18, 21, X et Y a été réalisée sur environ 2000 spermatozoïdes par patient, contre une population de 12 témoins. La condensation a été étudiée par test au bleu d'Aniline, et la fragmentation par TUNEL, contre 6 témoins. Pour l'ICSI, 7 couples ont bénéficié de protocoles de stimulation long, suivis d'une à 2 ponctions. Deux à 3 embryons ont été transférés immédiatement. Il y a ensuite eu éventuellement transfert d'embryons congelés. Au total, 10 ponctions d'ovocytes ont eu lieu avec transfert immédiat d'un à 3 embryons, et 5 transferts d'un à 3 embryons cryopréservés (TEC).

Il a été observé un taux plus élevé d'aneuploïdie statistiquement significatif entre les patients et les témoins concernant la disomie du 18 ( $0.6\% \pm 0.2$  (CtI < 0.44%),  $p < 0.05$ ) et XY ( $1.52\% \pm 1.25$  (N < 1.01%),  $p < 0.05$ ). Il n'a pas été observé de différence significative concernant la condensation et la fragmentation entre les patients et les témoins. Le taux de fécondation obtenu après ICSI est de 76% et le taux d'implantation est de 22% en transfert immédiat, et 30% suite au TEC.

Les taux d'aneuploïdies retrouvés restent très faibles et ne constituent donc pas une contre-indication à la prise en charge en ICSI ni un facteur de mauvais pronostic et ne justifient pas la réalisation d'un diagnostic préimplantatoire. Les spermatozoïdes des patients mutés conservent une bonne qualité nucléaire. Sur les 7 couples, 5 ont pu devenir parents au moins une fois. Les taux de fécondation et d'implantation obtenus avec embryons frais et cryopréservés sont du même ordre, voire supérieurs aux nationaux (respectivement 66%, 25%, 20%). Il paraît intéressant de rechercher une mutation dans ce gène chez les patients avec un phénotype MMAF, et plus particulièrement présentant un phénotype ultrastructural « 9+0 ». Ces patients pourraient être plus rapidement orientés en ICSI, avec des chances de réussite semblables aux taux moyens pour cette technique.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #2835 : Clinical and molecular report of novel GALC mutations in Moroccan patient with Krabbe disease: case report

#### Auteurs :

Maria Zerkaoui (1), Ilham Ratbi (2), Barbara Castellotti (3), Cinzia Gellera (3), Jaber Lyahyai (2), Yamna Kriouile (4), Abdelaziz Sefiani (2)

1. Département de Génétique Médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Maroc
2. Centre de Génomique Humaine, Université Mohammed V, Rabat, Maroc
3. Dipartimento di Diagnostica e Tecnologia Applicata, Fondazione IRCCS, Istituto Neurologico Carlo Besta, Milan, Italie
4. Service de Pédiatrie IIA, Hopital d'Enfant, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université Mohammed V, Rabat, Maroc

**Mots clefs :** Krabbe disease, GALC gene, Galactocerebrosidase, Globoid cell leucodystrophy

#### Résumé :

- **Background:** Krabbe disease (KD) or globoid cell leukodystrophy is an autosomal recessive lysosomal disorder, which affects metabolic and neurologic systems. This pathology has different forms. Infantile onset is about 85% to 90% of individuals with Krabbe disease. Disorder's onset is characterized, in early childhood, by hyperirritability, psychomotor deterioration associated to episodes of fever. To date, all reported cases have been attributed to mutations in galactosylceramidase gene (*GALC* gene) that encodes an enzyme which degrades galactosyl-sphingolipids (galactosylceramide, psychosine), essential in myelin production. A child compounded with two new mutations in the *GALC* gene was detected.
- **Case presentation:** An eleven month old male child of Moroccan origin presented to our genetic consultation with severe symptoms that included hypotonia, fever, vision loss and feeding difficulties. He was suffering from the 4th month of life. Krabbe disease was suspected. Galactocerebrosidase deficiency was confirmed by biochemical analysis. DNA sequencing revealed a novel heterozygous compound mutation in *GALC* gene. The child was compounded with two mutations c.860G > A; p.Cys287Tyr and c.1622G > A; p.W541\*.
- **Conclusion:** These new mutations could affect *GALC* structure and therefore its function. The identification of these mutations and their associated phenotypes are important to predict the prognosis and to confer to families an adequate genetic counseling.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #2836 : Nouvelle mutation du gène de la PSEN1 chez une famille présentant la maladie d'Alzheimer à début précoce

#### Auteurs :

Afef Achouri-Rassas (1), Nadia Ben Ali (1), Saloua Fray (1), Meriem Kechaou (1), Sondes Hadj-Fredj (2), Slim Echebi (1), Taieb Messaoud (2), Samir Belal (1)

1. Service de neurologie , hôpital Charles Nicolle , Tunis, Tunisie
2. Service de biochimie clinique et de biologie moléculaire , hôpital d'Enfants Béchir Hamza, Tunis, Tunisie

**Mots clefs :** PSEN1, Maladie d'Alzheimer, mutation

#### Résumé :

La maladie d'Alzheimer (MA) constitue la première cause de démences neurodégénératives. La MA est caractérisée par deux lésions cérébrales, les plaques séniles et les dégénérescences neurofibrillaires (DNF). Les plaques séniles sont des lésions extra-cellulaires constituées de peptide A $\beta$ , issu d'un précurseur protéique l'APP. Les DNF sont des lésions intra-neuronales dues à la protéine tau hyperphosphorylée qui s'agrège en paires de filaments appariées en hélice. Trois gènes ont été identifiés dans les formes autosomiques dominantes de la MA (AEOAD) APP, PSEN1 et PSEN2. Notre objectif est d'étudier sur le plan génétique une famille qui présente la maladie d'Alzheimer à-début précoce. L'étude a porté sur une famille recrutée à la consultation de mémoire du service de neurologie de l'EPS Charles Nicolle de Tunis. Le diagnostic de la MA a été effectué par un examen neurologique, un examen neuropsychologique et une imagerie cérébrale. L'étude moléculaire a été effectuée par une extraction d'ADN par la méthode "Salting-out" suivie d'un séquençage direct des exons du gène de la PSEN1. Nous avons trouvé une mutation T par C dans la position 248 de l'ADNc. Il s'agit d'une mutation faux sens qui entraîne le changement de l'acide aminé Isoleucine (Ile) par une Thréonine (Thr) dans la position 83 de la protéine PSEN1. Cette mutation n'a pas été décrite dans la base de données de la maladie d'Alzheimer <http://www.molgen.ua.ac.be/ADMutations>. Il s'agit donc d'une nouvelle mutation c.248 T > C (Ile83Thr) dans l'exon 4 du gène de la PSEN1, chez quatre individus de deux générations différentes dans une seule famille Tunisienne, avec deux cas diagnostiqués MA avec un âge de début précoce, et deux autres cas qui sont encore jeunes. Nous avons vérifié que la ségrégation dans notre famille était prouvée, que l'acide aminé était très conservé et que l'écart physico-chimique entre l'Isoleucine et la Thréonine était important. En conséquence, nous pouvons conclure que cette mutation est probablement pathogène.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

**#2839 : Apport d'une stratégie de séquençage ciblé d'un panel de gènes au diagnostic de nouvelles maladies traitables par la riboflavine.**

### Auteurs :

Alice Veauville-Merlié (1), Sophie Vasseur (1), Christine Vianey-Saban (1), Cécile Acquaviva-Bourdain (1)

1. Maladies Héritaires du Métabolisme et Dépistage Néonatal, CHU Lyon, Centre de Biologie et Pathologie Est, Lyon, France

**Mots clefs :** Riboflavine (vitamine B2), Déficit multiple en acyl-CoA déshydrogénases, Séquençage haut-débit

### Résumé :

La riboflavine est le cofacteur de nombreuses déshydrogénases FAD-dépendantes et de 2 transporteurs d'électrons, l'Electron Transfer Flavoprotein (ETF) et l'ETF-coenzyme Q-Oxydoréductase (ETF-QO), dont les anomalies sont responsables d'un déficit généralisé de l'oxydation mitochondriale des acides gras, le déficit multiple en acyl-CoA déshydrogénases (MADD). Des anomalies du métabolisme de cette vitamine pourraient être à l'origine de formes pseudo-MADD pour lesquelles l'étude des gènes codant l'ETF (*ETFA* et *ETFB*) et l'ETF-QO (*ETFDH*) ne retrouve pas de mutations, malgré un tableau clinique et biologique très évocateur.

Actuellement, seuls 3 déficits en transporteurs cytoplasmiques de la riboflavine sont décrits : le déficit en Riboflavin Transporter 1 (RFVT1) (codé par le gène *SLC52A1*, 1 cas décrit) de transmission autosomique dominante et les déficits en RFVT2 ou RFVT3 (respectivement codés par les gènes *SLC52A2* et *SLC52A3*, environ 60 cas décrits), de transmission autosomique récessive et responsables du syndrome de Brown-Vialetto-Van Laere (BVVL).

Afin de rechercher des anomalies du métabolisme de la riboflavine chez des patients pseudo-MADD, les 6 gènes connus impliqués dans ce métabolisme ont été étudiés par séquençage haut-débit : ils ont été inclus dans un panel de 30 gènes dont les altérations sont à l'origine d'anomalies de l'oxydation mitochondriale des acides gras, de myopathies avec surcharge en lipides ou de rhabdomyolyses.

Vingt-deux patients pseudo-MADD ou présentant un tableau clinique évocateur de déficit en transporteurs cytoplasmiques de la riboflavine et les nouveaux cas suspects de MADD ont été étudiés avec ce panel.

Des variations dans les gènes impliqués dans le métabolisme de la riboflavine ont été identifiées chez 6 patients, permettant de rapporter pour la première fois des mutations dans les gènes *FLAD1* codant la FAD synthétase (2 patients, l'un atteint d'une forme musculaire de pseudo-MADD et le second d'une hypotonie néonatale sévère) et *SLC25A32* codant le transporteur mitochondrial du FAD (1 patient avec une intolérance à l'effort). Trois nouveaux cas de syndrome de BVVL ont également été diagnostiqués avec de nouvelles mutations dans les gènes *SLC52A2* et *SLC52A3*. Quatre de ces 6 patients ont été traités par riboflavine permettant une amélioration clinique majeure.

Chez 4 autres patients, des mutations ont été mises en évidence dans les autres gènes du panel impliqués dans l'oxydation mitochondriale des acides gras, un de ces patients étant double hétérozygote.

Cette approche, ayant permis d'élargir le spectre des anomalies du métabolisme de la riboflavine impliquées en pathologie, est retenue en routine au laboratoire pour leur diagnostic et celui des anomalies de l'oxydation mitochondriale des acides gras. Elle permet également de caractériser des pathologies multigéniques. La méthode de Sanger est réservée à la confirmation des variants, aux études familiales et au diagnostic prénatal.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #2840 : Apport du séquençage haut-débit par capture ciblée dans le diagnostic des défauts de biogénèse des peroxysomes

#### Auteurs :

DAVID CHEILLAN (1), SOPHIE VASSEUR (1), GENEVIEVE SOUCHE (1), MAGALI PETTAZZONI (1), LOUISE MENEGAUT (2), ISABELLE ROUVET (3), THIERRY LEVADE (4), CHRISTINE VIANEY-SABAN (1)

1. Service Maladies Héritaires du Métabolisme et Dépistage Néonatal, Centre de Biologie Est, CHU de Lyon, Lyon, France
2. Laboratoire de Biochimie Spécialisé, Plateau technique de Biologie, CHU de Dijon, Dijon, France
3. Centre de Biotechnologie Cellulaire, Centre de Biologie Est, CHU de Lyon, Lyon, France
4. INSERM UMR1037, Centre de Recherche en Cancérologie, CHU Rangueil, Toulouse, France

**Mots clefs :** Syndrome de Zellweger, Peroxysome, Séquençage haut-débit, Panel, Maladies rares

#### Résumé :

**Introduction :** Les défauts de biogénèse des peroxysomes (DBP) sont des maladies rares de transmission autosomique récessive avec un phénotype pouvant être très large avec des formes à révélation néonatale (syndrome de Zellweger) jusqu'à des formes adultes paucisymptomatiques. Leur diagnostic, suspecté devant un profil biochimique caractéristique, est confirmé par l'étude des gènes *PEX* codant pour l'une des peroxines de la membrane du peroxysome. Plus de 15 gènes *PEX* sont impliqués en pathologie humaine rendant l'identification de mutations pathogènes souvent longue. Dans ce contexte, nous avons développé une approche par capture ciblées des gènes peroxysomiaux pour le diagnostic de ces pathologies.

**Matériel et Méthodes :** Dix patients présentant un tableau clinique de DBP dont le diagnostic avait été suspecté et pour lesquels un screening des mutations fréquentes des gènes *PEX* n'avait pas permis d'identifier leur génotype complet ont été inclus (aucune mutation identifiée (n=7), soit une hétérozygotie (n=3)). Une capture ciblée de 42 gènes peroxysomiaux par technique AmpliSeq a été développée incluant tous les gènes codant pour une protéine impliquée dans le métabolisme de cet organite. Le séquençage et l'analyse des variants ont été réalisés sur un système PGM associé à Ion Reporter v2.4 et la couverture vérifiée par Nextgenev2.4. Tous les variants identifiés ont été vérifiés par technique de Sanger.

#### Résultats :

Grâce à notre approche, nous avons mis en évidence les 2 allèles pathogènes chez 9/10 patients : *PEX1* (n=3), *PEX5* (n=1), *PEX6* (n=3), *PEX16* (n=1), *HSD17B4* (n=1). Les mutations pathogènes suivantes ont été identifiées : *PEX1* : c.2097dupT, c.1435\_1439CCTTT, c.1716\_1717delCA, c.3438+1G > C ; *PEX6* : c.1551\_1559del, c.2356C > T, c.387\_395del, c.2249A > G, c.1802G > A, c.2435G > A ; *PEX5* : c.442C > T ; *PEX16* : c.679C > T, c.829C > ; *HSD17B4* : c.46G > A, C.1796C > G.

Pour le dernier patient, une seule mutation hétérozygote a été identifiée dans le gène *PEX1* : c.1108dupA mais lors de la vérification par la technique de Sanger, une seconde mutation a été identifiée dans le même exon : c.760dupT qui n'avait pas été rapportée par le logiciel Ion reporter.

**Discussion :** Nos résultats montrent la puissance de cette nouvelle approche. Notamment, l'un de nos patients présentant un profil biochimique caractéristique d'un DBP était en réalité atteint d'un déficit isolé de la protéine bifonctionnelle. Dans ce cas, les approches classiques aurait été mise en défaut. Le patient hétérozygote montre les limites de la technique de séquençage haut-débit car la seconde délétion était localisée dans une région présentant une séquence répétée polyT difficile à amplifier.

**Conclusion :** Nos résultats permettent de proposer d'intégrer ce nouvel outil dans l'arbre diagnostic des DBP mais également à l'ensemble des peroxysomopathies afin d'améliorer le diagnostic de ces pathologies rares.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

**#2856 : Maladie de Menkes et Syndrome de la corne occipitale : un continuum clinique. Phénotype original chez un garçon porteur d'une mutation silencieuse en mosaïque du gène ATP7A.**

### Auteurs :

Stéphanie ARPIN (1), Marie-Pierre Moizard (1), Pierre Castelnau (2), Annick TOUTAIN (1)

1. Génétique, CHU Tours, Tours, France
2. Neuropédiatrie, CHU Tours, Tours, France

**Mots clefs :** Maladie de Menkes, Syndrome de la corne occipitale, ATP7A

### Résumé :

La maladie de Menkes (MM) et le syndrome de la corne occipitale (SCO) sont des pathologies alléliques rares situées chacune à une extrémité du spectre des affections causées par les mutations du gène *ATP7A*. Le tableau classique de MM chez le garçon se caractérise par un tableau neurodégénératif à début précoce, une modification caractéristique des cheveux et des particularités morphologiques ainsi que par une atteinte des tissus conjonctifs et une tortuosité vasculaire. Le SCO associe des anomalies des tissus de soutien avec hyperlaxité articulaire et cutanée, des exostoses occipitales pathognomoniques et une déficience intellectuelle modérée. A la frontière de ces 2 manifestations, on décrit des formes modérées de MM dans lesquelles l'atteinte motrice et intellectuelle est moindre et l'atteinte des tissus conjonctifs supérieure à celle habituellement décrite dans la MM. Dans tous les cas, on retrouve un abaissement du cuivre et de la céruléoplasmine sériques.

Nous rapportons ici le cas d'un enfant dont le phénotype n'entre dans aucun des cadres diagnostiques habituels. Sa symptomatologie associe des signes de la MM et du SCO mais est plus sévère que les formes modérées rapportées, sans aucune des atteintes pathognomoniques de ces syndromes. Les anomalies osseuses caractéristiques sont absentes, l'IRM cérébrale est normale et les dosages sériques également. Le patient, dont l'examen clinique est évocateur d'un SCO a cependant un décalage des acquisitions psychomotrices important mais sans dégradation neurologique.

L'analyse moléculaire du gène *ATP7A* sur l'ADN génomique a permis d'identifier chez le patient un variant de séquence silencieux, à l'état hémizygote au niveau de l'exon 9 : c. [=/2124 A > T], (p.Gly708Gly). La prédiction de l'impact de ce variant (Alamut®) était la création d'un site donneur d'épissage. La présence conjointe de la base normale A avec la base mutée était en faveur d'un variant somatique en mosaïque.

L'analyse par RT-PCR a confirmé la présence de 2 types de transcrits chez le patient : un transcrit prépondérant de taille et séquence normales et un transcrit très faiblement exprimé dépourvu des 50 dernières bases de l'exon 9 conduisant à un décalage de la phase de lecture.

Ce résultat a permis de confirmer le caractère pathogène de cette mutation synonyme. La présence de cette mutation en mosaïque chez le patient explique probablement son phénotype inhabituel ainsi que l'existence d'irrégularités de la pigmentation cutanée.

A notre connaissance, cette observation constitue le premier cas de mutation silencieuse en mosaïque rapportée dans le gène *ATP7A* et elle permet la mise en exergue du continuum clinique des troubles neurodéveloppementaux en rapport avec les mutations de ce gène.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #2870 : Indentification par séquençage exomique d'une mutation homozygote de *PCLZ1* chez deux frères présentant un échec complet de fécondation

#### Auteurs :

Pierre Ray (1), Sandra YASSINE (2), Raoudha Zouari (3), Charles Coutton (2), Zine-Eddine Kherraf (4), Thomas Karaouzène (1), Nicolas Thierry-Mieg (5), Christophe Arnoult (1)

1. Génétique Epigénétique et Thérapies de l'Infertilité, Institut Albert Bonniot, INSERM U823, GRENOBLE, France
2. Laboratoire Génétique Epigénétique et Thérapies de l'Infertilité, Institut Albert Bonniot, INSERM U823, GRENOBLE, France
3. Assistance Médicale à la Procréation, Polyclinique les Jasmins, TUNIS, Tunisie
4. Génétique Epigénétique et Thérapies de l'Infertilité, Institut Albert Bonniot, INSERM U823, GRENOBLE, France
5. TIMC-IMAG, Université Grenoble Alpes, GRENOBLE, France

**Mots clefs :** exome, fécondation, spermatozoïde, infertilité

#### Résumé :

Chez les mammifères, la libération d'un facteur spermatique dans l'ovocyte entraîne la libération du Ca<sup>2+</sup> contenu dans le réticulum engendrant toute une série d'évènements et comprenant le durcissement de la zone pellucide pour éviter la polyspermie, la fusion des deux pronoyaux et l'initiation de la première division embryonnaire. De nombreux arguments indiquent que le facteur spermatique responsable de cette activation ovocytaire (AO) est PLCZ1 (ou PLCzeta), une protéine positionnée en anneau au niveau de base postérieure de l'acrosome. Cependant, il a été récemment proposé que WBP2NL(ou PAWP)pouvait avoir la même fonction.

Nous avons étudié deux frères infertiles présentant un spermogramme normal et qui ont eu recours à la fécondation in vitro avec injection intracytoplasmique (ICSI) se soldant systématiquement par des échecs de fécondation caractérisés par une absence d'AO (au total 20 ovocytes injectés). Nous avons réalisé le séquençage exomique de ces deux frères et avons identifié une mutation faux-sens homozygote dans le gène *PLCZ1*. Cette mutation est localisée dans le domaine C2 de la protéine dont la fonction est actuellement mal connue.

Dans les spermatozoïdes des patients des études par immunofluorescence (IF) et western blot (WB) montrent que *PLCZ1* mutée (m) est absente, expliquant l'échec de fécondation observé chez les patients. Pour comprendre l'effet de cette mutation faux sens la protéine mutée à été injectée dans des ovocytes murins. Nous observons que la protéine mutée présente une distribution hétérogène, différente de la protéine sauvage. De plus la translocation au noyau de la *PLCZ1m* au stade pronoyaux est bloquée. Nous avons également observé que l'injection de *PLCZ1m* dans des ovocytes murins ne permet pas de générer les vagues calciques nécessaires à l'AO. Ces résultats indiquent donc que cette mutation provoque un défaut d'adressage et une mauvaise localisation de la protéine. Ce mauvais adressage ne permet pas à la protéine de trouver son positionnement physiologique sur le spermatozoïde et ne permet pas non plus à la protéine injectée dans l'ovocyte de trouver son substrat (PIP2) dans les membranes vésiculaires de l'ovocyte et d'initier la libération des stocks calcique.

Par ailleurs l'analyse des résultats exomiques a montré que la totalité des séquences codantes de *WBP2NL* étaient bien couvertes (> 20X) et qu'aucun variant délétère n'était présents chez nos deux patients. Nous avons également pu vérifier par IF et WB que la protéine est présente sur les spermatozoïdes de nos patients. Nos résultats indiquent que l'absence de *PLZ1* suffit à entraîner un échec de fécondation confirmant que *PLCZ1* est une protéine majeure de l'activation ovocytaire et que la présence de *WBP2NL* ne permettait pas de palier son absence.

Ce projet a été financé en parti par l'Agence Nationale de la Recherche (APP Genopat 2009).

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

**#2876 : Mise au point du séquençage massif en parallèle d'un large panel de gènes de myopathies et de dystrophies musculaires : une stratégie diagnostique efficace**

### Auteurs :

Reda ZENAGUI (1), Elodie COSSET (1), Alicia QUILLEVERE (1), François RIVIER (2), Raul JUNTAS MORALES (3), Claude CANCES (4), Guilhem SOLE (5), Dimitri RENARD (6), ULRIKE WALTHER LOUVIER (2), Xavier FERRER-MONASTERIO (5), Caroline ESPIL (7), Marie HUSSON (7), Marie-Christine ARNÉ-BES (8), Pascal CINTAS (8), Emmanuelle URO-COSTE (9), Marie-Laure NEGRIER-LEIBREICH (10), VALERIE RIGAU (11), Delphine LACOURT (1), Eric BIETH (12), Cyril GOIZET (13), Christine COUBES (14), Mireille CLAUSTRES (1), Michel KOENIG (1), Mireille COSSEE (1)

1. Laboratoire de Génétique Moléculaire , CHRU Montpellier, Montpellier, France
2. Département de Neurologie Pédiatrique, CHRU Montpellier, Montpellier, France
3. Département de Neurologie, CHRU Montpellier, Montpellier, France
4. Département de Neurologie Pédiatrique, CHU Toulouse, Toulouse, France
5. Département de Neurologie, CHU Bordeaux, Bordeaux, France
6. Département de Neurologie, CHU de Nîmes, Nîmes, France
7. Département de Neurologie Pédiatrique, CHU Bordeaux, Bordeaux, France
8. Département de Neurologie, CHU Toulouse, Toulouse, France
9. Département d'anatomie et cytologie pathologiques, CHU Toulouse, Toulouse, France
10. Service de Pathologie, CHU Bordeaux, Bordeaux, France
11. Département de Biopathologie cellulaire et tissulaire des tumeurs, CHRU Montpellier, Montpellier, France
12. Département de Génétique, CHU Toulouse, Toulouse, France
13. Département de Génétique, CHU Bordeaux, Bordeaux, France
14. Département de Génétique Médicale, CHRU Montpellier, Montpellier, France

**Mots clefs :** Myopathies et dystrophies musculaires, séquençage massif en parallèle, comparaisons technologiques, corrélations genotype/phenotype, diagnostic génétique

### Résumé :

Les myopathies et dystrophies musculaires (M-MDS) sont phénotypiquement et génétiquement hétérogènes, avec plus de 70 gènes connus. Le séquençage massif en parallèle (MPS) a révolutionné leur caractérisation moléculaire. Nous avons développé un protocole de MPS ciblé de 76 gènes de M-MD. Afin de garantir une capture optimale des gènes d'intérêt, nous avons comparé deux technologies différentes, Nextera Rapid Capture Custom Enrichment (Illumina) et SeqCap EZ Choice library (Roche-Nimblegen), et avons opté pour la technologie Roche-Nimblegen. Le séquençage a été mis au point sur un MiSeq (Illumina), permettant l'analyse simultanée de 12 patients, avec une couverture > 50 reads pour plus de 99% des séquences d'intérêt. De plus, l'analyse bioinformatique par deux logiciels indépendants s'est avérée essentielle pour la détection des petites délétions/insertions. Après application de filtres minimums, 5 à 15 variants potentiels sont détectés pour chaque patient. L'évaluation de leur pathogénicité est réalisée sur des critères de prédiction d'effet sur l'épissage et/ou la fonction protéique, les données de la littérature et des bases de données, le phénotype du patient, le mode de transmission suspecté et les études de ségrégation familiale. Des études d'épissage par analyse du cDNA ont été réalisées dans certains cas. L'analyse d'une cohorte de 40 patients (la plupart sporadiques) pédiatriques et adultes nous a permis d'identifier le gène en cause ou très probablement en cause chez près de 50% des patients, dont 80% de transmission autosomique récessive et 20% autosomique dominante avec néomutation. Pour 11 autres patients des analyses complémentaires sont en cours afin d'évaluer l'implication du gène suspecté. Au total 19 gènes sont impliqués de façon certaine ou probable, reflétant l'hétérogénéité génétique de ces pathologies. 66% des variants n'étaient pas rapportés dans la littérature, 19% étaient rapportés comme pathogènes et 15% comme VUS. Dans certains cas de phénotype atypique ou aspécifique, le MPS a permis de porter un diagnostic génétique qui n'aurait pas été évoqué par l'approche classique d'analyse gène par gène, permettant d'apporter une prise en charge spécifique aux patients (ex. surveillance cardiaque dans un cas de mutation *LMNA*) et un conseil génétique aux familles. Nos résultats ont également permis d'élargir le spectre mutationnel des gènes *NEB* et *TTN* incomplètement étudiés auparavant en raison de leur très grande taille et des phénotypes associés très variés. Pour 10 patients (25%), aucun variant potentiellement pathogène n'a été identifié. Dans 5 cas, la réévaluation des données phénotypiques a montré que la pathologie n'était probablement pas une M-DM. Pour les 5 derniers patients M-MD sans étiologie identifiée, une étude de WES est prévue ou en cours. Cette étude illustre l'importance du MPS d'un large panel de gènes dans la stratégie diagnostique des M-MD, en particulier pour les cas de phénotype atypique ou aspécifique

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

**#2889 : Aspects cliniques et moléculaires de trois familles marocaines avec acidose tubulaire rénale distale et surdité : identification d'une nouvelle mutation du gène ATP6V1B1.**

### Auteurs :

Wafaa Jdioui (1), Wafaa Jdioui (1), Lamiae Boualla (1), Ilham Ratbi (1), Kenza Soulami (2), Abdelaziz Sefiani (1)

1. Centre de génomique humaine, Faculté de médecine et de pharmacie, Université Mohammed V Souissi, Rabat, Maroc
2. Cabinet de néphrologie pédiatrique, , Casablanca, Maroc

**Mots clefs :** Acidose tubulaire rénale distale, surdité, gène ATP6V1B1, nouvelle mutation

### Résumé :

#### Introduction :

L'acidose tubulaire rénale distale primaire est une maladie génétique rare caractérisée par un défaut d'excrétion acide par les cellules intercalaires des tubes collecteurs rénaux. Les formes récessives de cette pathologie sont dues à des mutations dans deux principaux gènes : *ATP6V1B1* et *ATP6V0A4*. Les mutations causales du gène *ATP6V1B1* sont classiquement associées à une surdité neurosensorielle précoce.

#### Matériel et méthodes :

Le phénotype et le génotype de trois familles marocaines consanguines avec acidose tubulaire distale et surdité ont été évalués. L'analyse moléculaire a été réalisée par PCR et séquençage de l'exon 12 du gène *ATP6V1B1*.

**Résultats :** Une nouvelle mutation frameshift c.1169dupC du gène *ATP6V1B1* a été identifiée chez une famille et la mutation nord-africaine c.1155dupC chez les deux autres.

#### Discussion et conclusion :

Nous proposons dans ce travail un test génétique en première intention basé sur le dépistage de ces deux mutations, toutes deux localisées au niveau de l'exon 12 du gène *ATP6V1B1*, chez les patients marocains atteints d'une forme récessive d'acidose tubulaire distale avec surdité précoce. Le diagnostic moléculaire de l'acidose tubulaire distale permet l'instauration d'un traitement adapté, la prévention de l'insuffisance rénale chez les individus affectés et de prodiguer un conseil génétique adéquat aux familles à risque.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #2890 : Etude des gènes d'épilepsie monogénique en diagnostic par séquençage de nouvelle génération : expériences Lyonnaise et Parisienne

#### Auteurs :

Caroline Nava (1), Audrey Labalme (2), Cyril Mignot (3), Camille Louvrier (2), Lies Van de Velde Boermans (4), Raphaëlle Lamy (2), Julie Bogoin (4), Dorothée Ville (5), Delphine Héron (3), Julitta De Bellescize (6), Marie-Christine Nougues (7), Bénédicte Héron (7), Alice Goldenberg (8), Alexis Arzimanoglou (6), Damien Sanlaville (9), Eric Leguern (1), Gaëtan Lesca (10)

1. Département de Génétique - ICM Inserm U1127 - CNRS 7225 -UPMC, GH Pitié-Salpêtrière, Paris, France
2. HCL, Service de Génétique, GHE, Lyon, France
3. Département de Génétique et Centre de Référence Déficiences Intellectuelles de Causes Rares, GH Pitié-Salpêtrière, Paris, France
4. Département de Génétique, GH Pitié-Salpêtrière, Paris, France
5. HCL, Service de neuropédiatrie, GHE, Lyon, France
6. HCL, Epilepsie, sommeil et explorations fonctionnelles neuropédiatriques,, GHE, Lyon, France
7. Service de Neuropédiatrie, Hôpital Armand Trousseau, Paris, France
8. Service de Génétique, CHU CH.NICOLLE , Rouen, France
9. HCL, Service de Génétique,CNRS UMR 5292, INSERM U1028, CNRL, Lyon, et Université Claude Bernard Lyon 1, GHE, Lyon, France
10. HCL, Service de Génétique,CNRS UMR 5292, INSERM U1028, CNRL, Lyon, et Université Claude Bernard Lyon 1, GHE, Paris, France

**Mots clefs :** épilepsie, séquençage de nouvelle génération, diagnostic

#### Résumé :

L'implantation du séquençage haut débit dans les laboratoires de génétique moléculaire permet de séquencer en parallèle de nombreux gènes et d'augmenter ainsi le taux de mutations identifiées chez les patients souffrant de maladies génétiques, avec un gain de temps et d'argent.

Une collaboration entre les équipes de Lyon et de Paris (la Pitié-Salpêtrière), a permis la mise au point d'un panel de 270 Kb comprenant 83 gènes dont les mutations sont responsables de différentes formes d'épilepsies monogéniques, dont les encéphalopathies épileptiques (77 gènes) et les épilepsies familiales (6 gènes).

Une capture simple sur la nuit (Lyon) ou double (Paris) avec un multiplexage des ADNs indexés de 12 patients a été réalisée avec la technologie de capture SeqCapEZ de Roche® pour générer les banques d'exons cibles. Le séquençage a été réalisé sur une flow-cell « mid output » (Illumina®) sur un NextSeq 500 (Lyon) ou sur un Miseq (Illumina®) (Paris) en multiplexant les patients par 24.

Au total, 72 ADNs de patients ont été analysés, dont 34 étaient des contrôles avec des mutations ou Copy Number Variants (CNV) connus. La profondeur moyenne était supérieure à 1 400X lors d'un séquençage sur Nextseq et autour de 500X pour le Miseq. Dans les deux cas, seulement 2% des bases avaient une couverture inférieure à 30X. Les mutations ont toutes été retrouvées en dehors d'une délétion de 44 pb du gène *MECP2*. Les 3 délétions et la duplication d'exons ont également été détectées.

Chez les 38 patients sans cause connue nous avons identifié 10 variants pathogènes (26%). La profondeur obtenue nous a permis de mettre en évidence deux variants en mosaïque en proportion d'environ 20% dans les gènes *GABRB3* et *SCN2A* ainsi qu'une délétion partielle de l'exon 4 de *MECP2*. Des mutations ont également été identifiées dans les gènes *KCNQ2*, *KCNT1*, *ALG13*, *PLCB1*, *PIGN* et *CDKL5*. Cette dernière avait échappé à la double lecture lors du séquençage par la méthode Sanger. Treize variants de signification inconnue ont été mis en évidence (34% de notre cohorte). L'étude familiale permettra de progresser dans la classification de ces variants. Aucun variant pathogène n'a été détecté chez 15 patients (40% de la cohorte).

Notre panel permettra d'augmenter le taux diagnostique des épilepsies monogéniques. Il présente une bonne sensibilité puisque 2 mosaïques faibles et plusieurs CNVs ont pu être détectés. Il est nécessaire d'affiner les filtres de nos pipelines d'analyse afin de détecter tous les types de mutations (par exemple la délétion de 44 pb dans le gène *MECP2*). Une version améliorée du panel va être développée afin de réduire au maximum le nombre de régions couvertes à moins de 30X (2% actuellement) et de rajouter 7 gènes récemment identifiés.

**#2928 : Spectre clinique et génétique du syndrome de Bartter de type 3.**

**Auteurs :**

Elsa Seys (1), Olga Andrini (2), Lamisse Mansour-Hendili (3), Nelly Lepottier (4), Isabelle Roncelin (4), Christophe Simian (4), Xavier Jeunemaitre (4), Jacques Teulon (2), Anne Blanchard (5), Rosa Vargas-Poussou (4)

1. Pédiatrie B, Hôpital Maison Blanche, CHU de Reims, Reims, France
2. UMR\_S872, Equipe 3, UPMC Université Paris 06, Paris, France
3. , , Paris, France
4. Génétique, AP-HP Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris, France
5. Centre d'Investigations Cliniques, AP-HP Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris, France

**Mots clefs :** Tubulopathie, variabilité clinique, corrélation Phénotype/Génotype

**Résumé :**

Le syndrome de Bartter de type 3 (SB3) est une tubulopathie rare à transmission autosomique récessive caractérisée par une fuite rénale sodée et un hyperaldostéronisme secondaire. Il est dû à des mutations du gène *CLCNKB* codant pour le canal chlore CIC-Kb. Le SB3 est hétérogène du point de vue phénotypique et peut se présenter comme une forme sévère à début anté ou néonatal (SBA/N), un SB classique (SBC) ou un syndrome de Gitelman (SG). Le but de notre étude est de décrire le spectre clinique et génétique et la corrélation phénotype/génotype au sein d'une grande cohorte de SB3.

Nous avons analysé les données de 115 patients présentant un SB3 avec des variations dans le gène *CLCNKB* (analysé par séquençage Sanger et MLPA). L'effet sur la conductance du canal chlore de 8 changements faux-sens et 1 non-sens a été analysé par injection des ARNs mutés dans les oocytes de *Xenopus*. Pour la corrélation phénotype/génotype, ont été considérées comme perte complète de fonction (PCF) les variations suivantes: grandes délétions, changements décalant le cadre de lecture, non-sens, 2 premières bases du site d'épissage et faux-sens avec conductance résiduelle < 20% et comme perte partielle de fonction (PPF) les changements faux-sens avec un courant résiduel > 20%.

La proportion de phénotypes cliniques au diagnostic est de 29% A/NSB, 44% CSB et 27% SG. Le phénotype SBA/N était caractérisé par un hydramnios dans 85% des cas et un âge gestationnel significativement plus bas ( $P < 0.0001$  versus SBC et  $P = 0.0007$  versus SG). Une néphrocalcinose est présente dans 27% de SBA/N, 18% de SBC et 3% de SG. Les troubles hydro-électrolytiques étaient moins sévères dans le groupe SG excepté la présence d'une hypomagnésémie ( $P = 0.0006$  versus A/NSB). Vingt patients ont présenté une insuffisance rénale chronique : 9 A/NSB, 6 SBC et 5 SG. Nous avons détecté 60 mutations différentes dont 27 sont nouvelles (13 faux sens ; 5 petites délétions qui décalent le cadre de lecture ; 3 non-sens ; 3 d'épissage et 3 grandes délétions). En expression hétérologue, cinq mutations montrent des courants résiduels < 20% (p.W391\*, p.G296D, p.G424R, p.G433E et p.A469P), 3 montrent entre 55 et 65% (p.S297R, p.G345S et p.R395W) et une a une conductance conservée (p.A510T). Les grandes délétions sont plus fréquentes dans les groupes SBA/N et SBC et les mutations faux-sens dans le groupe SG. Une corrélation phénotype/génotype a été analysée indépendamment du phénotype initial chez 89 patients ayant les 2 allèles mutés et pour lesquels les changements faux-sens ont été exprimés *in vitro* (littérature et ce travail). Elle montre que les PCF sont associées à un âge au diagnostic plus précoce ( $P = 0.0001$ ). Aucune différence n'a été observée pour les autres paramètres cliniques ou biologiques.

En conclusion, la présentation initiale du SB3 est A/N 29%, CSB 44% et SG 27%. Une insuffisance rénale peut apparaître même dans les SG. L'âge de diagnostic de la maladie est corrélé à la sévérité du génotype.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #2933 : Identification par séquençage exomique d'un nouveau gène responsable d'azoospermie non obstructive et évaluation de pistes thérapeutiques

#### Auteurs :

ZINE-EDDINE KHERRAF (1)

1. UF de Biochimie et Génétique Moléculaire, CHU de Grenoble, F-38000, France, GRENOBLE, France

**Mots clefs :** Azoospermie, spermatogénèse, infertilité, exome

#### Résumé :

L'azoospermie non obstructive (ANO) est un phénotype fréquent d'infertilité masculine pour lequel peu de solutions thérapeutiques existent. La complexité de la spermatogenèse suggère la présence d'un réseau hautement spécialisé de plusieurs centaines de gènes exprimés spécifiquement ou majoritairement au niveau des cellules germinales. Deux frères issus de parents apparentés ont été suivis pour ANO primaire sans solutions thérapeutiques malgré plusieurs tentatives d'obtention de spermatozoïdes par biopsie testiculaire. Nous avons réalisé le séquençage exomique de ces deux patients afin d'identifier l'anomalie génétique responsable de leur infertilité. Nous avons identifié chez ces deux sujets une mutation homozygote affectant un site accepteur d'épissage sur le gène appelé ici *Azoo1* qui code pour un inhibiteur de sérine-protéases décrit comme étant fortement exprimé dans le testicule. Nous avons réalisé une RT-PCR à partir d'un résidu de biopsie testiculaire et observé que le transcrit présent reconnaissait un site accepteur alternatif situé un nucléotide avant le site sauvage entraînant un décalage du cadre de lecture. Nous avons ensuite étudié ce gène dans une plus large cohorte de patients infertiles et avons identifié une autre mutation tronquante à l'état hétérozygote chez un patient souffrant d'infertilité secondaire avec térato-oligozoospermie sévère.

Afin de montrer la responsabilité de ce gène dans l'infertilité masculine, nous avons étudié des souris knock-out dépourvues de ce gène. Nous avons observé que les souris mâles homozygotes KO pour *Azoo1* sont complètement stériles et ont une spermatogenèse altérée avec azoospermie et une dégénérescence testiculaire profonde confirmant ainsi le diagnostic génétique établi chez nos deux patients. Nous avons également observé que les spermatozoïdes des souris hétérozygotes présentent de multiples anomalies morphologiques au niveau de l'insertion du flagelle sur la tête, anomalies concordantes avec celles observées chez le patient hétérozygote. Nous avons montré que ce gène est exprimé de manière prédominante dans les testicules et que la protéine produite est présente dans le cytoplasme des cellules germinales à partir du stade pachytène. Nous avons également effectué un essai d'inhibition des protéase acrosomales *in vitro* pour tester l'efficacité de plusieurs inhibiteurs suspectés d'avoir une activité similaire à celle d'*Azoo1*. Nous avons pu obtenir un effet significatif avec deux inhibiteurs utilisés en pratique clinique dans d'autres indications thérapeutiques (sepsis, pancréatites aiguës et chroniques). Ces résultats suggèrent que ces composés pourraient être utilisés comme agents thérapeutiques pour restaurer la spermatogenèse chez les patients ayant un déficit du gène *Azoo1*. Plusieurs protocoles ont été envisagés dans cet objectif et sont actuellement testés chez la souris.

Ce projet a été financé en partie par l'Agence Nationale de la Recherche (APP Genopat 2009).

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #2935 : Interprétation difficile de mutations du gène Pol G responsables d'une myopathie associée à une neuropathie sensitive

#### Auteurs :

Jean-Philippe Simon (1), Stéphane Schaeffer (2), Amèle Mouadil (3), Françoise Chapon (1), Stéphane Allouche (4)

1. ANATOMO-PATHOLOGIE, CHU de Caen, Caen, France
2. Neurologie, CHU de Caen, Caen, France
3. EXPLORATIONS FONCTIONNELLES, CHU de Caen, Caen, France
4. Biochimie, CHU de Caen, Caen, France

**Mots clefs** : maladie mitochondriale ; polymérase gamma ; gène nucléaire ; myopathie ; neuropathie sensitive

#### Résumé :

Nous rapportons le cas d'un patient qui depuis l'âge de 12 ans présentait des signes cliniques faisant suspecter une neuropathie de Charcot-Marie Tooth non confirmée sur le plan moléculaire. A l'âge de 35 ans, il présente une amyotrophie importante, un ptosis bilatéral, une dysphagie associée à des fausses routes, des troubles digestifs, une dysurie et des troubles érectiles.

Des examens complémentaires sont réalisés : le bilan biologique montre une élévation modérée des CK à 670 UI/l (N<170), le test d'effort montre une importante diminution des capacités d'effort et une évolution normale du rapport lactate / pyruvate. L'électroneuromyogramme (ENMG) montre des potentiels sensitifs abolis aux 4 membres et un tracé myogène dans le psoas. Une biopsie musculaire est alors réalisée à l'âge de 38 ans et montre une inégalité des fibres, de nombreuses internalisations nucléaires, des agrégats au Trichrome de Gomori mais sans aspect de fibre rouge déchiquetée. Le dosage des complexes de la chaîne respiratoire sur le muscle met en évidence un déficit partiel et combiné des complexes I, III et IV d'environ 60%. L'étude de l'ADN mitochondrial ne révèle ni délétion ni déplétion. Une étude moléculaire est alors entreprise sur des gènes nucléaires candidats et seules deux substitutions à l'état hétérozygote sont retrouvées dans l'exon 3 (domaine exonucléase) du gène polG codant pour la seule polymérase mitochondriale : c. 695 G>A (R232H) et c. 752 C>T (T251I), mutations hétérozygotes également retrouvées respectivement chez le père et la mère.

Ces substitutions sont décrites comme étant associées à d'autres mutations en position trans localisées dans d'autres régions que le domaine exonucléase de l'enzyme ; elles sont responsables des syndromes de Leigh, d'Alpers, de myopathie et d'ophtalmoplégie chronique externe. Nos résultats suggèrent donc que l'association des mutations R232H et T251I seraient responsables du tableau clinique associant myopathie et neuropathie chez ce patient. Néanmoins, Farnum et al. (2014) ont indiqué que la mutation T251I ne serait pas pathogène remettant en cause l'interprétation de nos résultats. L'enquête familiale a révélé des anomalies uniquement chez le père : orteils en marteau, abolitions des réflexes ostéo-tendineux, ENMG montrant des potentiels sensitifs abolis aux membres inférieurs. Alors que la transmission des mutations du gène PolG est principalement autosomique récessive, certaines mutations ont été décrites comme étant autosomiques dominantes mais n'incluant pas nos deux mutations retrouvées. Récemment, l'étude de Rozier et al. (2014) a suggéré que la mutation R232H serait dominante car retrouvée à l'état hétérozygote chez 3 patients présentant une neuropathie axonale sensitive identique à celle de notre patient.

En conclusion, nos résultats suggèrent que la mutation R232H du gène polG pourrait se transmettre selon un mode autosomique dominant.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

#2938 : Intérêt de l'étude de la transcription du gène *F8* *in vitro*, *in vivo* et *in silico* dans l'hémophilie.

### Auteurs :

Catherine Costa (1), Roseline d'Oiron (2), Chantal Rothschild (3), Philippe Beurrier (4), Natalie Stieltjes (5), Valerie Roussel-Robert (5), Sophie Combe (5), Sylvia Letourneau (1), Danielle Verkin (1), Mayssa Nasser (6), Michel Goossens (6)

1. Laboratoire de Génétique et Biologie Moléculaire, APHP-Hôpitaux Universitaires Paris Centre-COCHIN , Paris, France
2. Centre de Traitement de l'Hémophilie et autres Maladies Hémorragiques Constitutionnelles Rares, AP-HP Hôpitaux Universitaires Paris Sud - Site Bicêtre, Kremlin-Bicêtre, France
3. Centre de Traitement des Hémophiles, AP-HP, CHU Necker Enfants Malades, Paris, France
4. Centre de Traitement des Hémophiles, CHU d'Angers, Angers, France
5. Centre de Traitement des Hémophiles, APHP-Hôpitaux Universitaires Paris Centre-COCHIN , Paris, France
6. Service de Génétique, APHP-CHU Henri Mondor, Créteil, France

**Mots clefs :** Hémophilie, ARN, Minigène, NGS

### Résumé :

Les hémophilies A et B sont des maladies monogéniques dues à des altérations des gènes *F8* et *F9*. Ils sont aujourd'hui en majorité explorés par séquençage à haut débit. Plus de 2000 mutations du gène *F8* sont actuellement décrites comme responsables de formes sévères modérées ou mineures d'hémophilie A. La plupart des mutations sont situées dans les régions codantes du gène. Cependant un certain nombre d'allèles restent encore non identifiés, 3% dans les formes sévères, de 10 à 15% dans les formes modérées et mineures. Par ailleurs des variations nouvelles et silencieuses sont parfois identifiées chez des patients ou des femmes à taux bas de FVIII:C sans antécédent familial d'hémophilie, parfois dans un contexte d'urgence car enceintes d'un fœtus masculin, rendant le conseil génétique difficile, particulièrement dans ces situations où le diagnostic est incertain.

Pour répondre à ces deux problématiques nous avons développé une approche combinant l'étude de l'ARNm extrait des lymphocytes sanguins, couplé à un test minigène et associé à une étude *in silico* à l'aide d'outils bioinformatiques. Nous l'avons appliquée à 18 patients. Dix patients hémophiles A (4 modérés, 6 mineurs) dont l'étude sur l'ADN génomique est infructueuse, 8 patients porteurs : d'une variation silencieuse n=3, d'une variation jamais décrite n=2, de variations introniques n=3. Parmi ces derniers, 6/8 patients sont des femmes présentant une hémostase évocatrice d'un statut de conductrice mais sans antécédent familial d'hémophilie dont 4 en cours de grossesse d'un fœtus de sexe masculin à risque d'hémophilie.

Un transcrit anormal est identifié chez 14/18 (75%) patients avec persistance d'un transcrit normal chez 12 patients. Un ARN de plus grande taille dû à une inclusion de 191pb correspondant à une partie de l'intron 1 par démasquage d'un site intronique cryptique est identifié chez 3 patients non apparentés mais originaires de la même région, suggérant un effet fondateur. Un ARN délété d'un exon est observé chez 4 patients : ¾ sont délétés de l'exon 2 et porteurs d'une variation silencieuse, ¼ délété de l'exon 6. Parallèlement, une approche qualitative et quantitative par minigène montre des transcrits anormaux associés à la présence d'un transcrit pleine longueur concordants avec la persistance d'un ARNm *F8* résiduel qui pourrait expliquer ou être en faveur d'une forme modérée ou mineure de la maladie. L'analyse génomique des régions introniques profondes permet chez 3 patients négatifs en analyse exonique, d'identifier le mécanisme responsable de l'épissage aberrant.

Cette stratégie montre son efficacité car elle permet de conclure 14/18 (75%) dossiers et surtout de répondre dans certaines situations délicates de patientes à risque pour lesquelles le conseil génétique était difficile car le diagnostic incertain. Cependant son utilisation en routine diagnostique avec un délai de rendu de résultat compatible avec des situations d'urgence est encore un challenge.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #2941 : Diagnostic moléculaire des maladies vasculaires héréditaires par une approche de NGS ciblé

#### Auteurs :

Mélanie EYRIES (1), Anne LEROY (1), Philippe CHARRON (2), Pascal LACOMBE (2), Marc HUMBERT (3), David MONTANI (3), Barbara GIRERD (4), Marilyne LEVY (5), Damien BONNET (5), Augustin OZANNE (6), Guillaume SALIOU (7), Marie-France CARETTE (8), Florent SOUBRIER (1)

1. Génétique, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France
2. Centre pluridisciplinaire HHT, Hôpital Ambroise Paré, Boulogne, France
3. Centre de référence de l'hypertension artérielle sévère, Hôpital de Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France
4. , Hôpital de Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France
5. Chirurgie cardiaque, Hôpital Necker, Paris, France
6. Centre pluridisciplinaire HHT, Hôpital de Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France
7. Neuroradiologie, Hôpital de Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France
8. Centre de compétence Maladie de Rendu Osler, Hôpital Tenon, Paris, France

**Mots clefs :** Hypertension artérielle pulmonaire, Maladie de Rendu-Osler, Maladie veino-occlusive pulmonaire, NGS

#### Résumé :

L'hypertension artérielle pulmonaire (HTAP) et la maladie de Rendu-Osler (HHT) sont deux maladies vasculaires héréditaires proches d'un point de vue moléculaire, puisque toutes deux sont associées à des mutations dans les gènes appartenant à la voie de signalisation des BMP et quelle peuvent coexister chez un patient porteur d'une mutation ACVRL1. Il existe d'autres pathologies vasculaires pouvant avoir des phénotypes chevauchants avec ces pathologies et qui sont parfois difficiles à distinguer cliniquement. C'est par exemple le cas du syndrome CM-AVM associé aux mutations RASA1 (capillary malformation-arteriovenous malformation) ou du syndrome CM-VM associé aux mutations TEK (capillary malformation-venous malformation) qui peuvent présenter des malformations vasculaires proches de celles observées dans l'HHT. De même la maladie veino-occlusive pulmonaire (MVO) est une forme rare d'hypertension pulmonaire cliniquement proche de l'HTAP, pour laquelle nous récemment avons identifié EIF2AK4 comme gène causal principal. De plus l'hétérogénéité génétique de ces pathologies est grandissante puisque les analyses d'exome ont permis d'identifier plusieurs nouveaux gènes au cours de ces dernières années.

Devant cette complexité diagnostique, nous avons développé une approche de capture ciblée en utilisant la technique [SeqCap EZ \(Roche Nimblegen\)](#) couplée à un séquençage NGS (Miseq system, Illumina) permettant de séquencer simultanément 12 gènes ACVRL1, ENG, GDF2 (BMP9), TEK, RASA1, SMAD4, BMPR2, CAV1, KCNK3, EIF2AK4, SMAD9, TBX4 permettant le diagnostic moléculaire de cinq pathologies vasculaires héréditaires: PAH, PVOD, HHT, CM-AVM and CM-VM.

Compte-tenu du grand nombre d'étapes de préparation des échantillons et de patients analysés, un test rapide "d'identité-vigilance moléculaire" pour exclure tout risque d'erreur d'échantillon biologique a également été mis en place. Le pipeline informatique utilisé permet la détection à la fois des mutations ponctuelles et des CNVs. Une cohorte de « preuve de principe » de 48 patients, présentant différents types de mutations précédemment identifiées par séquençage Sanger, a été testée avec succès par cette approche NGS. Les résultats obtenus montrent que le design réalisé permet de couvrir parfaitement 100% des régions codantes ciblées avec une profondeur minimale pour chaque nucléotide supérieure à 40X. Cette technique est maintenant utilisée en routine et à ce jour environ 100 patients ont été analysés. Cette nouvelle méthode diagnostic permet de réduire de façon significative nos délais de rendu de résultats et de proposer une offre diagnostique complète des gènes connus dans nos pathologies d'intérêts.

**#2946 : Architecture génétique de l'hypertension artérielle pulmonaire pédiatrique**

**Auteurs :**

Mélanie EYRIES (1), Marilyne LEVY (2), Marie-Christine WAILL (1), Isabelle SZEZEPANSKI (2), Sophie NADAUD (3), Damien BONNET (2), Florent SOUBRIER (1)

1. Génétique, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France
2. Chirurgie cardiaque, Hôpital Necker, Paris, France
3. UMR-S1166, INSERM\_ Université Pierre et Marie Curie, Paris, France

**Mots clefs :** HTAP de l'enfant, BMPR2, ACVRL1, TBX4

**Résumé :**

L'hypertension artérielle pulmonaire (HTAP) est une maladie rare et grave, définie par l'augmentation des résistances artérielles pulmonaires, résultant de l'oblitération progressive des artères pulmonaires de petit calibre par une prolifération des cellules vasculaires et évoluant vers l'insuffisance cardiaque droite. Dans le registre français, la prévalence de l'HTAP chez les enfants est estimée à 3,7 cas/million. Les principaux gènes connus pour être mutés dans l'HTAP sont BMPR2 et ACVRL1. De rares mutations ont également été décrites dans les gènes Endogline, SMAD8, KCNK3 et TBX4. Enfin des mutations au sein du gène EIF2AK4 ont été identifiées dans une forme rare d'hypertension pulmonaire : la maladie veino-occlusive pulmonaire (MVO).

**Objectifs :** Etudier la prévalence des mutations des principaux gènes impliqués dans l'HTAP dans la population pédiatrique et caractériser les relations génotype-phénotype.

**Méthodes :** Etude prospective de 66 cas index pédiatriques : 35 HTAP idiopathiques (HTAPi), 5 HTAP familiales (HTAPf), 3 PVOD et 23 HTAP associée à une cardiopathie congénitale. Un screening moléculaire de BMPR2 et ACVRL1 a été fait pour l'ensemble des patients. Pour les patients négatifs et atteints d'une HTAPi ou HTAPf, une analyse des gènes EIF2AK4, TBX4 et KCNK3 a été faite. Les patients HTAPf sans mutation identifiée ont également été analysés pour les gènes ENG et SMAD9.

**Résultats :** Une mutation a été identifiée chez 14 des 66 patients analysés : 8 chez les HTAPi (23% des HTAPi), 4 chez les HTAPf (80% des HTAPf) et 2 chez les PVOD (67% des PVOD). Aucune mutation n'a été retrouvée chez des patients ayant une HTAP associée à une cardiopathie congénitale. Cinq mutations ont été identifiées sur le gène BMPR2 (3 HTAPi et 2 HTAPf), 4 sur ACVRL1 (3HTAPi et 1 HTAPf), 3 sur TBX4 (2 HTAPi et 1 HTAPf) et 2 sur EIF2AK4 (2PVOD). Aucune mutation n'a été identifiée sur les gènes ENG, KCNK3 ou SMAD9. L'âge au diagnostic est similaire entre les porteurs et les non porteurs de mutations, mais la sévérité de la maladie au diagnostic est plus importante chez les porteurs de mutations que chez les non porteurs imposant la mise en route d'un traitement plus agressif.

**Conclusion :** Le taux de mutations identifiées dans la population pédiatrique est similaire à celui de la population adulte mais la distribution des mutations est très différente. En effet, les mutations BMPR2 sont identifiées dans une plus faible proportion que chez l'adulte (40% vs 80%) alors que les mutations ACVRL1 et TBX4 sont surreprésentées. Notre étude montre également qu'il n'y a pas d'indication à rechercher des mutations des gènes BMPR2 ou ACVRL1 chez des patients ayant une HTAP associée à une cardiopathie congénitale. Comme chez l'adulte, la sévérité de la maladie est plus importante au diagnostic chez les patients mutés mais l'évolution de la maladie est ensuite similaire entre les deux groupes.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

#2956 : Première description de la mutation mucoviscidose 1898+3 A-->C en Tunisie

### Auteurs :

Sondess HADJ FREDJ (1), Chaima SAHLI (1), Hajer SIALA (1), Nejla BEN JABALLAH (2), Taieb MESSAOUD (3)

- 1- Laboratoire de Biochimie et de Biologie moléculaire, Hôpital d'Enfants Bechir Hamza de Tunis-Tunisie, Tunis, Tunisie
- 2- Service de Réanimation, Hôpital d'Enfants Bechir Hamza de Tunis-Tunisie, Tunis, Tunisie
- 3- Laboratoire de Biochimie et de Biologie moléculaire, Hôpital d'Enfants Bechir Hamza de Tunis-Tunisie, Tunis, Tunisie

**Mots clefs :** Mucoviscidose, mutation, génotype, phénotype

### Résumé :

Depuis la découverte en 1989 du gène *CFTR* (Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator), responsable de la mucoviscidose, plus de 1900 mutations ont été rapportées. À l'exception de la délétion F508 del qui est retrouvée en moyenne sur les deux tiers des allèles mutés, ces mutations sont caractérisées par leur rareté.

Nous rapportons dans le présent travail la première description de la mutation intronique 1898+3 A-->C chez un patient mucoviscidose Tunisien.

Notre étude a porté sur un patient originaire du Nord Est de la Tunisie fortement suspect de la mucoviscidose ayant un test de la sueur positif (66 mmol/L) par iontophorèse à la pilocarpine (technique de l'Exsudose). L'étude moléculaire des 27 exons ainsi que les jonctions intron-exon du gène *CFTR* a été réalisée par séquençage direct.

Cette étude nous a permis d'identifier pour la première fois dans notre population au niveau de l'intron 12 la mutation rare 1898+3 A-->C à l'état homozygote. Une deuxième variation de séquence a été également identifiée à la même position, il s'agit de la mutation 1898+3 A-->G dont une étude fonctionnelle a permis de montrer son implication dans l'épissage de l'exon 12. Par ailleurs, le phénotype sévère observé chez notre patient présentant une bronchopneumopathie récidivante accompagnée d'une infection par *Pseudomonas aeruginosa* montre bien l'effet pathogène de cette mutation.

Notre travail aurait donc permis d'une part à enrichir les données épidémiologiques de la mucoviscidose dans notre pays et d'autre part à établir des corrélations entre le phénotype et le génotype.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #2993 : Mise en place du diagnostic moléculaire de Tubulopathies rénales héréditaires par un panel NGS

#### Auteurs :

Rosa Vargas-Poussou (1), Nelly Lepottier (1), Isabelle Roncelin (1), Christophe Simian (1), Annabelle Venisse (1), Valérie Boccio (1), Anne Legrand (1), Alejandro Garcia-Castano (1), Maria-Christina Zennaro (1), Xavier Jeunemaitre (1)

1. Génétique, AP-HP Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris, France

**Mots clefs :** panel NGS, tubulopathies héréditaires

#### Résumé :

Les tubulopathies rénales héréditaires sont un groupe de pathologies affectant le transport d'eau et solutés dans les tubes rénaux; elles sont hétérogènes du point de vue clinique et génétique. Pour la plupart des pathologies un diagnostic précis permet une meilleure prise en charge. Notre laboratoire réalise le diagnostic génétique de 20 tubulopathies héréditaires pour environ 700 cas index par an. Dans le cadre du réseau européen FP7 EURenOmics le panel Tub MASTR™ a été développé par MULTPLICOM permettant l'analyse de 22 tubulopathies. Ce panel contient les régions codantes de 37 gènes (~262.000 pb, 571 amplicons, 491 exons, 9 multiplex). Une première analyse effectuée par Multiplicom sur 20 échantillons de notre laboratoire contenant des mutations (substitutions, petites délétions et insertions et grands délétions) de 12 gènes différents, a permis la détection de l'ensemble des mutations.

Nous avons utilisé ce panel sur MiSeq (Illumina) en 2x300 pour analyser 246 échantillons (14 patients porteurs de mutations connues et 232 nouveaux cas index). L'analyse bio-informatique a été réalisée à l'aide des logiciels SeqNext (JSI), Variant studio et plus récemment Polydiag (plateforme de bio-informatique de Paris Descartes). Les gènes cibles des premiers 17 nouveaux cas analysés ont été séquencés en parallèle par Sanger, ainsi que les variations potentiellement pathogènes et les amplicons avec une profondeur inférieure à 30X des autres cas. Les résultats obtenus montrent que ce panel permet de couvrir parfaitement 99,8% (490/491) des exons ciblés (et leurs bordures introniques) avec une profondeur moyenne de 2000X. Nous avons détecté (18/19) des variations précédemment identifiées; la mutation non identifiée correspond à une délétion de 101pb du gène *SLC34A3* sur une région contenant un motif répété. Il n'y a pas eu de discordance entre les 2 techniques pour les cas analysés en parallèle. Des variations pouvant expliquer les différentes pathologies ont été détectées dans 22 gènes comme suit: acidose tubulaire proximale 1/1; maladie de Dent 3/5; diabète phosphaté 11/31; hypomagnésémie rénale 3/5; hypercalcémie-hypocalciurie familiale 15/58; hypocalcémie autosomique dominante 2/10; syndromes de Bartter et Gitelman 49/73; syndrome de Gordon 2/2; acidose tubulaire distale 20/28; diabète insipide néphrogénique 6/10 et pseudohypoaldostéronisme de type 1 4/9. Les mutations identifiées sont majoritairement des substitutions et des petites délétions et/ou insertions décalant ou pas le cadre de lecture. Deux délétions à l'état hétérozygote de plusieurs exons du gène *SLC12A3* et 2 délétions hémizygotiques du gène *AVPR2* ont été identifiées par NGS et confirmées par MLPA ou QMPSF.

En conclusion, le panel Tub MASTR permet une identification fiable des variations responsables de tubulopathies héréditaires. Les taux de détection de mutations pour les pathologies les plus souvent analysées sont similaires à ceux observés avec la technique Sanger.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #3026 : L'étude d'une mutation récurrente du gène *KCNQ2* met en évidence un nouveau mécanisme physiopathologique dans les encéphalopathies épileptiques précoces.

#### Auteurs :

Affef ABIDI (1), Jérôme DEVAUX (2), Florence MOLINARI (3), Gisèle ALCARAZ (4), François-Xavier MICHON (3), Julie SUTERA-SARDO (4), Hélène BECQ (3), Caroline LACOSTE (5), Cécilia ALTUZARRA (6), Alexandra AFENJAR (7), Cyril MIGNOT (8), Diane DOUMMAR (9), Bertrand ISIDOR (10), Sylvie N GUYEN (11), Estelle COLIN (12), Sabine DE LA VAISSIÈRE (13), Damien HAYE (14), Adeline Trauffer (15), Catherine Badens (16), Fabienne PRIEUR (17), Gaetan LESCA (18), Laurent VILLARD (19), Mathieu MILH (16), Laurent ANIKSZTEJN (3)

1. GMGF-UMR\_S910, INSERM, Aix-Marseille Université, Marseille, France
2. CRN2M-UMR7286,, CNRS, Aix-Marseille Université, Marseille, France
3. INMED-UMR\_S 901, INSERM, Aix-Marseille Université, Marseille, France
4. GMGF-UMR\_S910, , INSERM, Aix-Marseille Université, Marseille, France
5. Service de neurologie pédiatrique,, APHM, Hôpital d'Enfants de la Timone, Marseille, France
6. Service de génétique et neuropédiatrie,, CHU Besançon, , Besançon, France
7. Service de Génétique Médicale et Centre de Références « Déficiences Intellectuelles de Causes Rares », , APHP, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière,, Paris, France
8. Groupe de Recherche Clinique « Déficiences Intellectuelles de Causes Rares », , Université Pierre et Marie Curie, , Paris, France
9. Service de Génétique Médicale et Centre de Références « Déficiences Intellectuelles de Causes Rares », , APHP, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, , Paris, France
10. Service de génétique et neuropédiatrie,, CHU de Nantes, , Nantes, France
11. Service de neurologie pédiatrique,, CHU d'Angers, , Angers, France
12. Service de génétique, , CHU d'Angers, , Angers, France
13. Service de neurologie pédiatrique,, CHU de Tours, , Tours, France
14. Service de génétique, , CHU de Tours, , Tours, France
15. Service de neurologie pédiatrique,, CHU de Lille, Lille, France
16. Service de neurologie pédiatrique,, APHM, Hôpital d'Enfants de la Timone, Marseille, France
17. Service de Génétique Médicale, Chu de Saint Etienne, Saint Etienne, France
18. Service de génétique,, Hospices Civils de Lyon, , Lyon, France
19. GMGF-UMR\_S910,, INSERM, Aix-Marseille Université, Marseille, France

**Mots clefs** : encéphalopathie épileptique, *KCNQ2*, néonatale

#### Résumé :

Des mutations dans le gène *KCNQ2* sont décrites dans deux types d'épilepsies: les **encéphalopathies épileptiques précoces** (EEP), pathologies où le pronostic est très défavorable avec une forte détérioration des fonctions cognitives et motrices, et les **épilepsies familiales bénignes néonatales** (EFBN), caractérisées par un développement normal. Nous avons constitué une cohorte nationale multicentrique de 402 patients EEP et nous avons retrouvé une mutation dans le gène *KCNQ2* chez 35 patients. Notre étude porte sur la compréhension des mécanismes qui sont à l'origine de l'hétérogénéité de pronostic entre ces deux pathologies.

*KCNQ2* code pour une sous-unité d'un canal potassique dépendant au voltage, à l'origine du courant  $I_M$ . Ces sous-unités s'associent entre elles pour former un canal homo-tétramérique ou hétéro-tétramérique en association avec *KCNQ3*. Ce canal est localisé au segment initial de l'axone et il contribue à l'hyperpolarisation post-potential d'action, empêchant la genèse de potentiels d'action successifs. Nous avons choisi d'étudier la mutation p.A294V, qui est récurrente et présente chez 7 de nos patients, et la mutation p.A294G qui a été décrite dans les EFBN. A ce jour, la plupart des études qui ont été réalisées sur les mutations de *KCNQ2* concluent que l'impact des mutations sur le courant  $I_M$  explique les différences de sévérité.

Après transfection de cellules CHO avec un plasmide codant pour la sous-unité *KCNQ2* sauvage ou mutée, avec ou sans la sous-unité *KCNQ3*, nous avons mesuré le courant grâce à l'électrophysiologie. Nos résultats montrent que la sous-unité *KCNQ2*<sup>A294V</sup> exprimée sous forme **homomérique** n'est pas fonctionnelle. Exprimé sous forme **hétéromérique** -avec *KCNQ3*-, le courant est réduit de 83%, il peut être restauré partiellement si l'on ajoute des sous-unités *KCNQ2*<sup>WT</sup>, avec 30% de diminution. Cette dernière association reproduit la situation génétique du patient. Avec les sous-unités *KCNQ2*<sup>A294G</sup> (EFBN), les altérations du courant sont similaires à celles observées

avec KCNQ2<sup>A294V</sup> (EEP). Ces résultats montrent que les différences cliniques majeures entre ces deux pathologies sont, pour cette mutation, indépendantes du courant résiduel.

Pour étudier ce canal dans un contexte plus physiologique, nous avons transfecté des neurones de souris avec des plasmides taggés codant pour KCNQ2. La localisation des canaux a ensuite été observée par immunohistochimie. Nos résultats montrent que la mutation p.A294V entraîne une redistribution des canaux au compartiment somato-dendritique, contrairement à la mutation p.A294G. La présence de canaux KCNQ2 au niveau des dendrites pourrait être à l'origine d'une diminution de l'excitabilité dendritique.

Ce nouveau mécanisme physiopathologique pourrait expliquer la différence de sévérité observée dans la pathologie et pose plusieurs questions pour la recherche de molécules à visée thérapeutique chez les patients EEP.

#### Auteurs :

Cyril Mignot (1), Gaétan Lesca (2), Charles Perrine (1), Babak Mashhour (3), Damien Sanlaville (4), Diane Doummar (5)

1. Département de Génétique et Centre de Référence Déficiences Intellectuelles de Causes Rares, Groupe Hospitalier Pitié Salpêtrière, Paris, France
2. Service de Génétique, Hôpital Edouard Herriot, Lyon, France
3. Service d'Ophtalmologie, Institut Montsouris, Paris, France
4. Service de Génétique, Groupement Hospitalier Est, Bron, France
5. Service de Neuropédiatrie, Hôpital Armand Trousseau, Paris, France

**Mots clefs :** imagerie cérébrale, malformation oculaire

#### Résumé :

La dilatation des espaces de Virchow-Robin (EVR) est un phénomène physiologique lié au vieillissement. Elle se rencontre dans certaines maladies neurodégénératives dont le CADASIL et les mucopolysaccharidoses. Ces maladies sont habituellement diagnostiquées sur des signes cliniques et une histoire évocateurs. Lors de l'identification, sur une IRM cérébrale pédiatrique, d'une dilatation très importante des EVR, sans signe de mucopolysaccharidose, quelle autre maladie génétique doit être recherchée ? Nous rapportons ici une observation familiale illustrant l'intérêt de l'examen ophtalmologique dans une telle situation.

Emilien est suivi en neuropédiatrie pour un trouble praxique visuospatial associé à un tracé de pointes-ondes continues du sommeil de localisation pariétale, attribué à une délétion intragénique du gène *GRIN2A* transmise par sa mère (et également transmise à ses deux frères présentant les mêmes symptômes neurologiques). Il n'est pas déficient intellectuel. Emilien présente par ailleurs une anomalie d'Axenfeld-Rieger (AAR, dysgénésie du segment antérieur de l'œil comprenant une hypoplasie de l'iris, des synéchies irido-cornéennes et un embryotoxon postérieur), transmise par son père suivi également pour une bicuspidie aortique avec dilatation de l'aorte ascendante et pour une surdité mixte. L'IRM cérébrale de l'enfant et de son père a mis en évidence une dilatation importante des EVR et une anomalie osseuse de la selle turcique. Des explorations supplémentaires ont été réalisées chez Emilien qui retrouvent une hypoacusie de perception en rapport avec une malformation bilatérale de l'oreille interne de type Mondini, comme chez son père.

Cette association morbide a fait évoquer une délétion 6pter incluant le gène *FOXC1*. Une Analyse Chromosomique sur Puce à ADN (ACPA) a permis de confirmer cette hypothèse en mettant en évidence une délétion interstitielle de 1,4 Mb en 6pter comprenant le gène *FOXC1*. Cette délétion est héritée du père.

La perte de fonction d'un des allèles de *FOXC1*, du fait d'une délétion ou d'une mutation ponctuelle est responsable à la fois de l'AAR, de l'anomalie osseuse de la selle turcique et de la dilatation des EVR. Les anomalies du gène *PITX2* (localisé en 4q25), un autre gène d'AAR d'hérédité dominante, pourrait également être responsables de ce phénotype (2 patients seulement). La surdité est probablement liée à *FOXC1*, la littérature ne mentionne pas de malformation de Mondini cependant.

En conclusion, une dilatation majeure des EVR doit faire évoquer une délétion 6pter emportant le gène *FOXC1*, une mutation du gène *FOXC1*, voire une anomalie du gène *PITX2*. Cela implique que la découverte d'une dilatation des EVR chez une personne ayant une AAR est attendue si une anomalie de *FOXC1* (ou de *PITX2*) en est la cause. Réciproquement, la découverte d'une dilatation majeure des EVR sans cause doit faire pratiquer un examen ophtalmologique à la recherche d'une AAR qui, si elle est retrouvée, orientera vers le diagnostic.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

**#3049 : Prévalence des mutations du gène NOBOX dans une cohorte de 100 patientes Tunisienne atteintes d'IOP.**

### Auteurs :

Nouha Bouali (1)

1. , 1. Laboratory of Human Cytogenetics, Molecular Genetics and Reproductive Biology, FarhatHachedUniversityHospital, Street Ibn ELJAZZAR, 4000 Sousse, Tunisia, CHU, Tunisie

**Mots clefs :** mutation, gène NOBOX, IOP

### Résumé :

**Prévalence des mutations du gène *NOBOX* dans une cohorte de 100 patientes Tunisienne atteintes d'IOP.**

**Bouali Nouha<sup>1</sup>, Francou Bruno<sup>2,3</sup>, Bouligand Jérôme<sup>2,3</sup>, Malek Iness<sup>1</sup>, Kammoun Molka<sup>1</sup>, [Warszawski Josiane<sup>4</sup>](#), Mougou Soumaya<sup>1</sup>, Saad Ali<sup>1</sup>, Guiochon-Mantel Anne<sup>2,3\*</sup>**

1. Laboratory of Human Cytogenetics, Molecular Genetics and Reproductive Biology, FarhatHachedUniversityHospital, Street Ibn ELJAZZAR, 4000 Sousse, Tunisia
2. Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Hôpital de Bicêtre, Service d'Epidémiologie, Université Paris Saclay, Université Paris sud,; INSERM U1018 eq 4, Le Kremlin – Bicêtre

**2. INSERM UMR\_S1185, Université Paris Saclay, Université Paris sud, Faculté de Médecine Paris Sud, 63 rue Gabriel Péri, F-94276 Le Kremlin-Bicêtre, France**

**3. Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Hôpital de Bicêtre, Service de Génétique moléculaire, Pharmacogénétique et Hormonologie, Le Kremlin Bicêtre, F-94275, France**

L'insuffisance ovarienne primaire (IOP) affecte environ 1% des femmes de moins de 40 ans. Les causes de cette déplétion prématurée de la fonction ovarienne sont multiples : chromosomiques, toxiques, auto-immunes, infectieuses, génétiques. Ces dernières années, plusieurs gènes ont été identifiés comme associés à l'IOP. Nous avons cherché à établir la prévalence du gène *NOBOX* (*Newborn Ovary Homeobox*) dans une nouvelle population.

Le gène *NOBOX* est localisé sur le chromosome 7q35. *NOBOX* fait partie d'une grande famille de protéines à homéodomaine et joue un rôle important au cours de l'ovogenèse.

Nous avons étudié une cohorte de 100 femmes d'origine tunisienne présentant une IOP idiopathique. Chez les quelles nous avons cherché une anomalie du caryotype et une prémutation FMR1. Nous avons utilisé une population contrôle de 200 femmes de fertilité normale d'origine tunisienne. Nous avons séquencé les exons codant *NOBOX*.

Nous avons retrouvé 3 mutations non sens de *NOBOX* (p.Arg117Trp; p.Gly91Trp et p.Pro619Leu) chez 8 patientes, ce qui représente une prévalence des mutations de *NOBOX* de 5.4% dans la population tunisienne. Ces mutations ne sont pas retrouvées dans la population contrôle.

En conclusion, la fréquence des mutations de *NOBOX* est de 5.4% chez les patientes Tunisienne atteintes d'IOP. Notre étude confirme dans une nouvelle population l'implication du gène *NOBOX* comme le premier gène autosomique candidat impliqué dans l'IOP.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #3051 : Stratégies diagnostiques à haut débit et neuropathies périphériques héréditaires : le bilan marseillais.

#### Auteurs :

Nathalie Bonello-Palot (1), Amandine Boyer (1), Nathalie Martini (1), Eric Salvo (1), Christophe Pécheux (1), Caroline Lacoste (1), Christelle Castro (2), Nathalie Roeckel-Trevisiol (2), Jean Pouget (3), Sharham Attarian (3), Brigitte Chabrol (4), Rafaëlle Bernard (1), Nicolas Lévy (1), Valérie Delague (2)

1. Département de Génétique médicale , Hôpital Timone enfants, Marseille, France
2. Inserm, UMR\_S 910, Aix Marseille Université, GMGF, Marseille, France
3. centre de référence pour la prise en charge des maladies neuromusculaire, Hôpital Timone Adultes, Marseille, France
4. Service de neuropédiatrie, Hôpital Timone enfants, Marseille, France

**Mots clefs :** neuropathies périphériques héréditaires diagnostiques à haut débit

#### Résumé :

Les Neuropathies Périphériques Héréditaires (IPN) constituent l'une des causes les plus fréquentes de maladies neurologiques héréditaires, et sont caractérisées par une dégénération progressive, longueur-dépendante, du système nerveux périphérique (SNP). On distingue trois grands groupes: (i) les neuropathies Sensitivo-motrices (HMSN), ou maladie de Charcot-Marie-Tooth (CMT), (ii) les neuropathies motrices pures, dites distales (dHMN), et (iii) les neuropathies sensitives pures (Hereditary Sensory Neuropathies, HSN). Avec des mutations décrites dans près de 90 gènes, ce groupe de maladies se prête particulièrement bien à une stratégie de diagnostic moléculaire à haut-débit, qui remplace progressivement les stratégies d'exploration « gène par gène ».

Nous présentons ici les résultats de différentes stratégies de criblage à haut-débit sur une cohorte de 36 patients, atteints de diverses formes d'IPN : 11 CMT de type démyélinisante dont 2 à transmission autosomique dominante ; 16 formes axonales dont 7 à transmission autosomique dominante ; et 1 à transmission autosomique récessive, 2 HSN à transmission autosomique dominante, 2 formes spinales à transmission autosomique dominante et 5 formes sévères de CMT sans mesure des vitesses de conduction nerveuse.

Trois stratégies différentes ont été utilisées :

-Séquençage de l'exome entier (10 patients)

-Séquençage ciblé des régions codantes de 2472 gènes référencés dans OMIM (panel « OMIM ») (11 patients)

-Séquençage ciblé des régions codantes de 45 gènes, connus pour causer des IPNs (15 patients).

Dans les deux premiers cas, nous avons procédé à une analyse ciblée sur une liste de gènes connus pour être impliqués dans la pathologie.

Au total, les différentes stratégies utilisées, nous ont permis d'identifier 18 variations de séquence, chez 14 patients, dans 13 gènes : GDAP1, MFN2, SH3TC2, NEFL, DNM2, YARS, FBXO38, GJB1, INF2, TRPV4, IGHMBP2, BSCL2 et SPTLC2. Le diagnostic a pu être confirmé chez 11 patients sur 36 soit 30% des cas analysés. 5 patients sont porteurs de mutations rapportées dans la littérature et les bases de données en lien avec la pathologie. 6 patients ont eu des analyses complémentaires (étude familiale et analyses bioinformatiques) qui ont permis d'argumenter en faveur de la pathogénicité des mutations. 3 patients sont toujours en cours d'analyse notamment d'enquête familiale.

En comparaison avec les résultats que nous obtenions pour les stratégies « gène par gène » qui étaient d'environ 17%, nous observons, sur cette petite cohorte, une augmentation de réponse en termes de diagnostic moléculaire. Néanmoins, il ne nous a pas été possible de conclure pour près de 61% des patients. Nous discutons des raisons de cet échec, qui diffèrent, selon la stratégie utilisée, et nous comparons l'efficacité des différentes stratégies utilisées. Nous discutons également de la pertinence d'un séquençage ciblé, versus une analyse ciblée d'un séquençage plus global.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

**#3055 : Forte prévalence de l'oligogénisme dans les hypogonadismes hypogonadotropes congénitaux (HHC)/Kallmann (KS) par séquençage nouvelle génération (NGS).**

### Auteurs :

Bruno Francou (1), Dilek Imanci (1), Aurélien Cottin (2), Alexis Proust (1), Christophe Habib (3), Claire Bouvattier (4), Thierry Brue (5), Anne Guiochon-Mantel (1), Jérôme Bouligand (1), Jacques Young (6)

1. Génétique Moléculaire, Pharmacogénétique et Hormonologie, Hôpital Bicêtre (APHP), Le Kremlin Bicêtre, France
2. U1185, INSERM, Le Kremlin Bicêtre, France
3. Plateforme CMRs PARIS SUD, Hôpital Bicêtre, Le Kremlin Bicêtre, France
4. Endocrinologie pédiatrique, Hôpital Bicêtre (APHP), Le Kremlin Bicêtre, France
5. Endocrinologie, diabète, maladies métaboliques., Hôpital de la Conception (APHM), Marseille, France
6. Endocrinologie et Maladies de la Reproduction, Hôpital Bicêtre (APHP), Le Kremlin Bicêtre, France

**Mots clefs :** genetique, oligogénisme, hypogonadisme, miseq, haut debit,

### Résumé :

#### Contexte

Le séquençage par NGS est parfaitement adapté au diagnostic des HHC/KS en permettant une analyse systématique des gènes identifiés dans les formes isolées ou même combinés à d'autres déficiences endocriniennes. L'objectif était d'étudier la prévalence de l'oligogénisme, c'est-à-dire la responsabilité dans le phénotype HHC/KS de la coexistence de plusieurs mutations localisées sur des gènes différents.

#### Patients et Méthodes

Nous avons sélectionné et analysé 100 patients HHC/KS grâce à une "puce NGS" comprenant un panel de 70 gènes (codant±50bp) en utilisant un séquenceur Illumina MiSeq. L'analyse de 35 gènes "diagnostics" (parmi eux: *GNRHR*, *KISS1R*, *TACR3*, *KAL1*, *FGFR1*, *CHD7*) est complétée par celle de 35 gènes "candidats" sélectionnés sur des modèles animaux ou sur leur fonction biologique. L'analyse bioinformatique est réalisée sur notre propre portail intranet Galaxy en suivant les recommandations du BroadInstitute. L'approche NGS, nous assure une couverture de 98% des régions d'intérêt avec une profondeur de lecture > 30X.

#### Résultats

Elle a permis d'identifier des mutations ponctuelles (101 sur 27 gènes) ou des grands réarrangements chez ces 100 patients HHC/KS. Cette approche systématique nous a permis l'identification des causes génétiques d'HHC de façon beaucoup plus rapide et efficace. Elle a fait découvrir chez plus de 50% des patients des potentiels oligogénismes, à la fois sur gènes "diagnostics" ou candidats, non décrits dans la database EXAC.

#### Discussion :

Cette étude par NGS révèle l'importance de l'oligogénisme dans les HHC. Des analyses familiales abouties, associées à la caractérisation fonctionnelle des variants, sont indispensables pour établir formellement l'étiologie moléculaire des HHC/KS.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

#3056 : Amyotrophie spinale et épissage alternatif des gènes SMN dans une famille tunisienne.

### Auteurs :

Emna HARZALI (1), Hajer FODDHA (1), Nadia LEBAN (1), Ines OUAHCHI (2), Moez GRIBAA (3), Mahbouba FRIH AYED (4), Gérard LEFRANC (5), Ali SAAD (3), Jemni BEN CHIBANI (6), Amel HAJ KHELIL SAAD (1)

1. Institut Supérieur de Biotechnologie et Faculté de Pharmacie, Université de Monastir, Monastir, Tunisie
2. Service de Cytogénétique, Génétique moléculaire et Biologie de la reproduction, CHU Farhat Hached de Sousse et Université de Sousse, Sousse, Tunisie
3. Service de Cytogénétique, Génétique moléculaire et Biologie de la reproduction, CHU Farhat Hached de Sousse et Université de Sousse, Sousse, Tunisie
4. Service de Neurologie, CHU Fattouma Bourguiba de Monastir, Monastir, Tunisie
5. Laboratoire d'Immunogénétique Moléculaire, Institut de Génétique Humaine, Université Montpellier 2, Montpellier, France
6. Laboratoire de Biochimie et de Biologie moléculaire, Faculté de Pharmacie de Monastir, Université de Monastir, Monastir, Tunisie

**Mots clefs :** Amyotrophie spinale, gènes SMN, diagnostic moléculaire, excision d'exon, épissage alternatif.

### Résumé :

**Introduction :** Les amyotrophies spinales (SMA) sont des pathologies héréditaires caractérisées par une dégénérescence de motoneurons de la corne antérieure de la moelle épinière se traduisant par une faiblesse et une atrophie des muscles. Elles se transmettent selon le mode autosomique récessif. Quatre variétés de formes cliniques de SMA sont observées en fonction du degré de sévérité de la maladie corrélé à l'âge d'apparition des symptômes. La distinction entre les 4 formes au niveau clinique est parfois limitée, ce qui rend les explorations moléculaires plus fiables pour le diagnostic. Le gène impliqué dans cette maladie, dénommé SMN (*Survival of motoneuron*) montre deux copies (SMN1 et SMN2). Il fait partie des 4 gènes du locus répété et inversé de 500 Kb situé en 5 q11.2-13.3 donnant ainsi 2 exemplaires de chaque gène (centromérique et télomérique). De nombreux transcrits ont été décrits dans les cas de SMA suite à un épissage alternatif des gènes SMN1 et SMN2 caractérisé surtout par l'exclusion de l'exon 7 du gène SMN1. L'objectif de notre travail consiste, d'une part à réaliser un diagnostic de la SMA dans une famille tunisienne et d'autre part, à analyser les transcrits des gènes SMN dans cette famille.

**Patients :** Une famille tunisienne: les deux parents et leur deux enfants diagnostiqués cliniquement porteurs de SMA de type II.

**Méthodes :** Les ADN et les ARN ont été extraits. Les ADN ont servi pour le diagnostic moyennant plusieurs méthodes (PCR suivie de digestion enzymatique, MLPA et séquençage automatique). Les ARN ont servi pour l'analyse des transcrits par RT PCR.

**Résultats :** L'analyse des ADN a montré l'exclusion à l'état homozygote chez les patients et hétérozygote chez les parents des exons 7 et 8 du gène SMN1 ainsi que la présence de deux copies du gène SMN2 chez les 2 patients. Une délétion de l'exon 5 du gène NAIP faisant partie du locus répété a également été observée. L'analyse des ARN (révélée sur gel de polyacrylamide) a montré de nombreux transcrits au niveau de plusieurs exons correspondant à l'activation de sites cryptiques d'épissage. La quantification des bandes obtenues a permis de démontrer une différence individuelle dans le choix de ces sites. Le clonage puis le séquençage de ces différents transcrits permettraient de déterminer les positions de ces sites cryptiques.

**Conclusion :** Notre travail constitue un outil puissant pour compléter et confirmer les investigations cliniques. La technique MLPA est un outil de diagnostic sûr permettant de mettre en évidence les délétions des exons et le nombre de copies des gènes SMN1 et SMN2 dans les SMA. La RT PCR permet de confirmer les résultats génomiques et de mettre en évidence les différents isoformes d'épissage de ces gènes permettant ainsi d'établir une corrélation génotype/phénotype pour expliquer les différences de sévérité de la maladie et aider au traitement.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

**#3066 : Expression des lamines de type A dans les cellules cancéreuses d'épanchements pleuraux métastatiques: lien entre diminution de la lamine A et potentiel métastatique.**

### Auteurs :

Elise KASPI (1), Sophie LAROUMAGNE (2), Thomas Vandemoortele (3), Sophie PERRIN (1), Andrée Robaglia-Schlupp (1), David Braunstein (4), Joelle MICALLEF (4), Hervé DUTAU (5), Diane Frankel (6), Annachiara De Sandre-Giovannoli (7), Nicolas LEVY (7), Pierre CAU (7), Philippe ASTOUL (5), Patrice ROLL (7)

1. INSERM, GMGF UMR\_S 910, Aix Marseille Université, Marseille, France
2. Department of Thoracic Oncology – Pleural diseases – Interventional pulmonology, APHM, Hôpital Nord, Marseille, France
3. Department of Pulmonology, Centre Hospitalier de l'Université de Montréal, Hôpital Notre- Dame, Montreal, Canada
4. Centre d'Investigation Clinique - Unité de Pharmacologie Clinique et d'Évaluations Thérapeutiques (CIC-UPCET), APHM, Hôpital la Timone, Marseille, France
5. Department of Thoracic Oncology – Pleural diseases – Interventional pulmonology, APHM, Hôpital Nord, Marseille, France
6. Laboratoire de Biologie Médicale, APHM, Marseille, France
7. INSERM, GMGF UMR\_S 910, Aix Marseille Université, Marseille, France

**Mots clefs :** Lamines, adénocarcinome bronchique, épanchement pleural, cellules carcinomateuses, potentiel métastatique

### Résumé :

Les lamines sont des protéines nucléaires appartenant à la famille des filaments intermédiaires localisés dans la *lamina* et le reste de la matrice nucléaire. Les lamines contribuent au maintien de la forme des noyaux via leurs interactions avec les protéines de la face nucléoplasmique de l'enveloppe nucléaire ainsi qu'au métabolisme de l'ADN et des ARNs nucléaires.

Les anomalies morphologiques nucléaires font partie des critères cytologiques de caractérisation des cellules néoplasiques. Elles résultent probablement de modifications qualitatives et/ou quantitatives de protéines entrant dans la constitution de la *lamina* et/ou de la matrice nucléaire. Quelques études ont proposé les lamines de type A comme des marqueurs diagnostiques ou pronostiques des cancers, leur profil d'expression pouvant varier selon le type de cancer, tels que les hémopathies malignes ou les carcinomes (colon, prostate, poumon...).

L'objectif de ce projet a été d'identifier des biomarqueurs spécifiques afin d'affiner la caractérisation des cellules néoplasiques dans le contexte des pleurésies malignes métastatiques. Nous avons analysé au niveau protéique le profil d'expression des lamines (A, C et B) dans des cellules cancéreuses issues d'épanchements pleuraux métastatiques par trois techniques : western blot, immunofluorescence et cytométrie en flux.

Dans un sous-groupe de patients présentant un adénocarcinome pulmonaire, une forte diminution de l'expression de la lamine A, mais pas de la lamine C a été observée. Cette réduction d'expression isolée de la lamine A est corrélée avec la perte de l'EMA/MUC1 (Epithelial Membrane Antigen), marqueur épithélial, impliqué dans la transition épithélio-mésenchymateuse (EMT), et avec une augmentation du nombre de sites métastatiques, avec une localisation osseuse majoritaire.

Chez les patients atteints d'adénocarcinome bronchique, la diminution d'expression de la lamine A n'est pas corrélée à une surexpression du microARN miR-9 décrit pour cibler spécifiquement l'ARNm de la lamine A (et pas de la lamine C), comme cela a été montré dans le tissu nerveux. Nous pensons que d'autres mécanismes pourraient réguler l'expression de la lamine A, tels que SRSF1 (serine/arginine rich splicing factor 1), contrôlant l'épissage alternatif du gène *LMNA*, ou *MALAT-1* (metastasis associated lung adenocarcinoma transcript 1). Cet ARN nucléaire de grande taille non codant, inhibe l'expression de miR-9 et est impliqué dans la régulation de SRSF1. Par ailleurs, plusieurs publications ont rapporté l'implication de SRSF1 et de *MALAT-1* dans la formation de métastases à partir de cancer du poumon.

Nos résultats suggèrent que la faible expression de la lamine A dans les cellules cancéreuses issues d'épanchements pleuraux métastatiques est un biomarqueur de leur origine pulmonaire et représente un marqueur péjoratif associé à la transition épithélio-mésenchymateuse (EMT) et au potentiel métastatique.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #3076 : Effet modulateur d'un variant d'HSPB3 dans une Neuropathie Périphérique Héritaire Sensitive due à une nouvelle mutation dans SPTLC2.

#### Auteurs :

Florence Riccardi(1) , Amandine Boyer (1), Nathalie Martini (1), Christophe Pécheux (1), Caroline Lacoste (1), Karine Nguyen (1), Annie Vershueren (2), Jean Pouget (2), Sharham Attarian (2), Nicolas Lévy (1), Valérie Delague (3), Nathalie Bonello-Palot (1)

1. Département de Génétique médicale , Hôpital Timone enfants, Marseille, France
2. centre de référence pour la prise en charge des maladies neuromusculaire, Hôpital Timone Adultes, Marseille, France
3. Inserm, UMR\_S 910, Aix Marseille Université, GMGF, Marseille, France

**Mots clefs :** HSN SPTLC2 gène modificateur

#### Résumé :

L'HSN de type 1 est une neuropathie sensitive progressive héréditaire de transmission autosomique dominante caractérisée par une perte de la sensibilité profonde associée à des troubles nociceptifs. Ces HSN sont dues à des mutations dans les gènes *SPTLC1* et *SPTLC2* mais il existe également des formes frontières avec la maladie de Charcot-Marie-Tooth de type 2B.

Nous décrivons une famille dont le cas index est un homme âgé de 48 ans qui présente une insensibilité à la douleur depuis 5 ans. Il vient en consultation car il a des difficultés à la marche qui l'ont contraint en 3 ans à porter des orthèses anti-steppage bilatéral. Il présente un déficit sensitivomoteur quadri-distal avec une amyotrophie très sévère et des maux perforants plantaires.

Nous avons réalisé chez ce patient un séquençage d'exome sur une plateforme Ion Proton puis restreint l'analyse à un panel de 72 gènes impliqués dans la pathologie. Nous avons identifié chez ce patient une nouvelle mutation non rapportée dans le gène *SPTLC2*, c.1304G>T (p.Gly435Val) à l'état hétérozygote. L'étude familiale a permis de montrer que ses deux fils atteints sont également porteurs de cette mutation.

La ségrégation de cette mutation, la cohérence avec la présentation clinique, ainsi que les analyses bioinformatiques sont des arguments en faveur du lien causal de ce variant avec la pathologie selon un mode autosomique dominant. L'identification de nouvelles mutations dans le gène *SPTLC2* est d'un réel intérêt pour le patient à la fois bien sûr pour le conseil génétique mais également d'un point de vue thérapeutique. En effet, des études antérieures ont montré que les mutations dans les gènes *SPTLC1* et *SPTLC2* entraînent une accumulation de désoxysphingolipides qui sont neurotoxiques. La L-sérine est maintenant connue pour être un candidat thérapeutique potentiel.

Par ailleurs, nous avons également mis en évidence chez ce patient un variant dans le gène *HSPB3* c.246\_246delT (p.Glu83Lysfs\*13) à l'état hétérozygote. Il s'agit d'un variant rare car présent à une fréquence de 0.00049% dans la base de données ExAC, mais sans précision sur le contexte clinique (possiblement chez des asymptomatiques). Ce gène est par ailleurs, incriminé dans des formes motrices de neuropathies périphériques héréditaires. Dans cette famille, ce variant co-ségrège avec la maladie. Les outils de prédictions bioinformatiques lui prédisent un caractère délétère. Ainsi il n'est pas exclu que ce variant puisse être impliqué, éventuellement comme modulateur dans la neuropathie périphérique familiale.

La question qui se pose ici est donc de savoir si seule la mutation dans le gène *SPTLC2* est responsable de la pathologie ou si elles participent ensemble au phénotype ?

La génération de variant apporté par ces nouvelles technologies nous amènent de plus en plus à évoquer des gènes à effet modulateur ou additif et donc de formuler l'hypothèse de digénisme voire de polygénisme.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #3078 : Rôle des protéines Rho dans les propriétés migratoires et invasives des tumeurs mammaires basal-like

#### Auteurs :

Amélie Cavard (1), Nicolas Sonnier (1), Yannick Bidet (1), Yves-Jean Bignon (1), Maud Privat (1)

1. Laboratoire d'Oncologie Moléculaire, Centre Jean Perrin, Clermont-Ferrand, France

**Mots clefs :** Protéines Rho, Cancer du sein, Basal-like, Migration cellulaire

#### Résumé :

Les protéines Rho exercent un rôle dans la migration cellulaire. Des analyses transcriptomiques et protéiques montrent qu'une faible expression de RhoA et une forte expression de RhoB est associée aux tumeurs lumineales, et l'inverse associé au sous-type basal-like. Ce dernier sous-type étant connu pour ses grandes capacités invasives, ces protéines représentent de potentielles cibles thérapeutiques. Un protocole d'ARN interférence de RhoA et RhoB a montré que dans les lignées basales MDA-MB231 et HCC1937, une diminution de RhoA réduit les capacités migratoires et invasives des cellules, alors qu'une diminution de RhoB les augmente. De plus, BRCA1 pourrait jouer un rôle dans l'expression différentielle de RhoA et RhoB dans les tumeurs basal-like, puisque la restauration de l'expression de BRCA1 dans la lignée basal-like SUM1315 diminue l'expression de RhoA et augmente celle de RhoB, conduisant à une réduction de sa capacité migratoire.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #3080 : Explorations moléculaires du syndrome de Usher dans le cadre d'un projet E-rare

#### Auteurs :

Gema García-García (1), João Carlos Ribeiro (2), Eduardo Silva (2), Ieva Sliesoraityte (3), Mireille Claustres (4), Anne-Françoise Roux (4), Christel Vaché (4)

1. Laboratoire de génétique des maladies rares, Université de Montpellier, Montpellier, France
2. Center for Hereditary Diseases and Visual Neurosciences Laboratory, IBILI, Faculty of Medicine, University of Coimbra, Coimbra, Portugal
3. Institut de la Vision, Centre Hospitalier National d'Ophtalmologie des Quinze-Vingts, Paris, France
4. Laboratoire de génétique moléculaire, CHRU Montpellier, Montpellier, France

**Mots clefs :** Syndrome de Usher, analyse moléculaire, E-rare,

#### Résumé :

Le syndrome de Usher est une maladie rare héréditaire, qui associe une surdité neurosensorielle congénitale et une rétinite pigmentaire (RP) entraînant la perte progressive de la vision. La transmission est autosomique récessive et la prévalence est estimée à environ 4-6/100 000. En 2013, un réseau de jeunes chercheurs européens a obtenu un financement E-rare consacré au syndrome de Usher (consortium EURUSH, regroupant 4 pays: France, Pays-Bas, Allemagne et Portugal).

Notre rôle au sein du projet consiste en l'analyse moléculaire des patients recrutés dans les centres cliniques de Coimbra (Portugal) et Paris (France) et non encore genotypés. A ce jour, 24 familles ont été analysées, 18 originaires du Portugal et 6 de France. Pour réaliser l'analyse moléculaire nous avons développé un design de capture en solution liquide de Nextera Rapid Custom Capture Enrichment (Illumina) contenant 112 gènes (12 responsables du syndrome de Usher, 38 gènes responsables de Rétinites Pigmentaires Autosomiques Récessives et 62 gènes responsables de surdités non syndromiques). Les bibliothèques ont été séquencées sur une plateforme MiSeq de Illumina.

Nous avons identifié 18 mutations différentes, dont 10 nouvelles, dans les gènes responsables du syndrome de Usher. Nous avons trouvé les deux mutations causales dans 16/24 familles. Les gènes impliqués sont *MYO7A*, *USH2A*, *PCDH15* et *GPR98*. Nous avons également mis en évidence des mutations dans les gènes responsables de surdités (*GJB2*) ou de RP (*CERKL* et *EYS*), dans trois familles.

Cette étude a permis l'identification de 10 nouvelles mutations dans les gènes Usher, 8 dans la population portugaise et 2 dans la population française. Les résultats obtenus soulignent également toute l'importance d'une analyse complémentaire incluant les gènes responsables de surdité et de RP non syndromiques pour une analyse exhaustive. Ces données doivent être prises en compte dans le cadre de la prise en charge des patients.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

**#3081 : Optimiser le diagnostic moléculaire du syndrome néphrotique cortico-résistant avec un panel ciblé de séquençage à haut débit.**

### Auteurs :

Olivia BOYER (1), Olivier GRIBOUVAL (2), Patrick NITSCHKE (3), Christine BOLE-FEYSOT (4), Annelies ROTTHIER (5), Franz SCHAEFER (6), Corinne ANTIGNAC (7)

1. Inserm U1163, Institut Imagine, Université Paris Descartes, Néphrologie Pédiatrique, APHP Hôpital Necker, PARIS, France
2. Inserm U1163, Institut Imagine, Université Paris Descartes, , Paris, France
3. Plateforme de bioinformatique de l'Université Paris Descartes, , PARIS, France
4. Plateforme de génomique, Inserm U1163, Institut Imagine, Université Paris Descartes, PARIS, France
5. MULTIPLICOM, , NIEL, Belgique
6. Division of Pediatric Nephrology, Center for Pediatrics and Adolescent Medicine, HEIDELBERG, Allemagne
7. Inserm U1163, Institut Imagine, Université Paris Descartes, Département de Génétique, APHP Hôpital Necker, PARIS, France

**Mots clefs :** Séquençage haut débit, mutations, syndrome néphrotique, diagnostic

### Résumé :

La hyalinose segmentaire et focale (HSF) est une entité clinico-pathologique caractérisée par une protéinurie isolée ou syndrome néphrotique cortico-résistant (SNCR) qui évolue vers l'insuffisance rénale terminale. Les gènes impliqués dans le SNCR codent principalement pour des protéines exprimés dans le podocyte (cellule épithéliale hautement différenciée) dont l'altération modifie la structure et la fonction de la barrière de filtration glomérulaire.

Certains cas sont familiaux avec une transmission autosomique dominante ou récessive mais de nombreux cas sporadiques sont également présents dans notre cohorte. Les SNCR/HSF familiaux revêtent une large hétérogénéité génétique avec plus de 30 gènes incriminés à ce jour. Le diagnostic moléculaire classique par séquençage successif des différents gènes est devenu fastidieux et coûteux. A l'inverse, le séquençage d'exome analyse des milliers de gènes mais génère de grandes quantités de données dont l'interprétation est difficile et qui peuvent conduire à la découverte fortuite de facteurs de susceptibilité pour d'autres pathologies, ce qui soulève des questions éthiques complexes.

Au sein du consortium EurenOmics (réunissant des équipes européennes qui étudient les maladies rénales rares) et avec l'aide de la société Multiplicom, notre groupe a mis au point un panel ciblé de séquençage à haut débit (basé sur 11 PCR multiplexes pour 660 amplicons) afin d'analyser 31 gènes connus ou potentiellement impliqués dans les SNCR/HSF. Ce panel a été validé chez 24 patients dont les mutations étaient connues (sensibilité 97%) puis utilisé chez 62 patients sans mutation identifiée par séquençage classique, et chez 174 nouveaux patients (236 familles) de la cohorte française. L'âge médian au diagnostic était de 5,4 ans (0-70), et 34% avaient atteint le stade d'insuffisance rénale terminale à un âge médian de 14,8 ans (0-76) ; 32% avaient des antécédents familiaux de SNCR/HSF et 25% des atteintes extra-rénales.

Des mutations ont été identifiées chez 20% des familles pour lesquelles le séquençage classique en Sanger des principaux gènes n'avait pas permis de déterminer le gène muté, et également chez 20% des nouveaux patients. Le taux de mutation était de 24% dans les familles autosomiques dominantes, 37% dans les familles autosomiques récessives ou consanguines et 19% chez les cas sporadiques. Il était de 42% en cas de SN congénital ou infantile, de 13% en cas de SNCR de l'enfant, et 19% chez les adultes testés. Les gènes mutés étaient les suivants: *NPHS1*, *NPHS2*, *PLCE1*, *WT1*, *INF2*, *TRPC6*, *LMX1B*, *MYO1E*, *COQ2*, *ADCK4*, *LAMB2*, *ITGB4* et *SMARCAL1*. De façon intéressante, nous avons identifié des mutations dans des gènes de biosynthèse du coenzyme Q10 chez 5 patients (2,2%), chez qui une supplémentation en ubiquinone précoce pourrait améliorer le pronostic.

En conclusion, le séquençage à haut débit ciblé est une technique fiable et rentable qui permet d'optimiser le diagnostic génétique dans le SNCR/HSF.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #3088 : Myopathie centronucléaire liée à l'X: la levure, un outil pour cerner la fonction de la myotubularine MTM1.

#### Auteurs :

Denise Stuber (1), Séverine Bär (2), Dimitri Bertazzi (3), Leonela Amoasii (4), Bruno Rinaldi (5), Jocelyn Laporte (4), Sylvie Friant (5)

1. UMR7156 Department of Molecular and Cellular Genetics, Université de Strasbourg, Strasbourg, France
2. UMR 7156 Department of Molecular and Cellular Genetics, INSERM, Strasbourg, France
3. UMR 7156 Department of Molecular and Cellular Genetics, Université de Strasbourg, Strasbourg, France
4. Département de Médecine Translationnelle et Neurogénétique, IGBMC, Illkirch, France
5. UMR 7156 Department of Molecular and Cellular Genetics, CNRS, Strasbourg, France

#### Résumé :

X-linked centronuclear myopathy (XLCNM) is a muscle disorder characterized by neonatal hypotonia and abnormal organelle positioning in skeletal muscle. This myopathy is due to different mutations in the MTM1 gene encoding the phosphoinositide phosphatase myotubularin. Disease-causing mutations are found all along the protein sequence and not only in the phosphatase catalytic domain. We used the yeast *Saccharomyces cerevisiae* as a eukaryotic model to analyze the *in vivo* phosphatase activity of different disease mutants. We investigated the cellular effects resulting from expression or overexpression of different MTM1 disease-causing mutants in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. The expression of human MTM1 resulted in the enlargement of the vacuole/lysosome, a consequence of its phosphatase activity. We used the vacuolar size as a marker for the MTM1 *in vivo* activity. Our results show that some mutations responsible for severe forms of myopathy are active phosphatases. Therefore, these mutations would lead to XLCNM disease through a mechanism not directly linked to their phosphatase activity. To further question this finding, we used the myotubularin *Mtm1* mouse knock-out (KO) model that reproduces faithfully the histopathological findings in human patients. Expression of phosphatase-dead mutants improved most phenotypes of *Mtm1* KO mice. This shows that the maintenance of normal skeletal muscles is largely independent from myotubularin phosphatase activity, while defects in the activity may participate in the onset of the disease. These results show that yeast *S. cerevisiae* is a good model to determine the *in vivo* activity of human myotubularin and can be used to further define the molecular impact of patient mutations.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #3089 : Apport du séquençage de nouvelle génération dans la détection et la quantification des mosaïques : étude d'une isodisomie maternelle partielle du chromosome 7 en mosaïque

#### Auteurs :

Marie-Pierre REBOUL (1), Stéphanie BUI (2), Claudio Plaisant (3), Michael FAYON (4), Marie-Hélène DEALBERT (1), Marie-laure Vuillaume (3), Didier Lacombe (5), Patricia Fergelot (3), benoit Arveiler (3)

1. Service de Génétique Médicale, Groupe Hospitalier Pellegrin, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France
2. CRCM pédiatrique, Groupe Hospitalier Pellegrin, CHU de Bordeaux, bordeaux, France
3. Service de Génétique Médicale, Groupe Hospitalier Pellegrin, CHU de Bordeaux, bordeaux, France
4. CRCM pédiatrique, Groupe Hospitalier Pellegrin, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France
5. Maladies rares : Génétique et Métabolisme (MRGM), Université de Bordeaux, Bordeaux, France

**Mots clefs :** mutation du gène CFTR, disomie uniparentale, mosaïcisme, séquençage de nouvelle génération

#### Résumé :

Le séquençage massif en parallèle, en améliorant la détection et la quantification de mutations faiblement présentes, est un outil de choix pour étudier le mosaïcisme. Cette technique nous a permis de calculer la fréquence de l'allèle maternel chez un patient porteur d'une isodisomie maternelle partielle du chromosome 7 en mosaïque.

Ce garçon actuellement âgé de 16 ans a été diagnostiqué alors qu'il avait 33 mois. Il présentait un retard de croissance sévère et inexplicable à début intra utérin. Un test de la sueur avec des valeurs douteuses à deux reprises a justifié l'étude du gène *CFTR* chez ce patient et ses parents. Lors de l'analyse des mutations du gène *CFTR*, l'enfant est apparu hétérozygote pour la mutation F508del. Le signal de l'allèle F508del d'origine maternelle était beaucoup plus intense que l'allèle normal. Devant ce profil moléculaire particulier une étude de la ségrégation de 21 microsatellites et 2 polymorphismes répartis sur le chromosome 7 avait été réalisée en séquençage Sanger : ils montraient la présence d'un allèle maternel et d'un allèle paternel avec un déséquilibre en faveur de l'allèle maternel. L'hypothèse génétique que nous avançons pour expliquer les résultats moléculaires de l'enfant est la présence d'une mosaïque dans le sang avec 2 populations cellulaires, l'une normale et l'autre porteuse d'une isodisomie maternelle partielle du bras long du chromosome 7. Un diagnostic de syndrome de Silver-Russell est alors évoqué chez ce patient.

Nous avons repris l'étude de ce patient par une approche NGS afin de calculer la fréquence de l'allèle maternel dans trois prélèvements de nature différente : sang, salive et cellules nasales. Pour cela nous avons utilisé le Panel Ion AmpliSeq™ *CFTR* sur le Personal Genome Machine (PGM, Life Technologies) et les logiciels Alamut Visual (Interactive Biosoftware) et SeqNext (JSI) pour l'analyse de nos données. Ces logiciels nous permettent de visualiser directement le nombre de *reads* d'origine maternelle par rapport au nombre de *reads* d'origine paternelle au niveau de la mutation c.1521\_1523delCTT (p.Phe508del) et du SNP c.1408G > A (p.Met470Val). Ainsi nous avons trouvé pour la mutation c.1521\_1523delCTT une fréquence de l'allèle maternel de 80% dans le sang, 90% dans la salive et 76% dans les cellules nasales. Chez la mère nous retrouvons une fréquence de 50% dans le sang.

Pour le variant p.Met470Val présent sur un autre amplicon du panel, la fréquence est de 83% pour le sang, 80% pour la salive et 75% pour les cellules nasales.

Nous pouvons en déduire pour ce patient qu'il y a environ 50% de cellules porteuses de l'isodisomie partielle du chromosome 7 dans les trois différents tissus.

D'autre part nous avons vérifié l'absence de grand remaniement au locus *CFTR* par CGH-array ciblée.

En conclusion, le séquençage de nouvelle génération grâce à son haut débit et ses données numériques est très adapté pour quantifier facilement et précisément une mosaïque dans des tissus de nature différente.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

**#3091 : Evidence for genetic heterogeneity in left ventricle non compaction by next generation sequencing of 110 genes in 95 unrelated patients.**

### Auteurs :

Pascale Richard (1), Flavie ADER (1), Maguelone Roux (2), Nadia Aoutil (1), Cecile Lavoute (3), Karine NGUYEN (4), David-Alexandre Tregouët (2), Gilbert Habib (3), Philippe Charron (5)

1. UF Cardiogénétique et Myogénétique, Service de Biochimie Métabolique, Paris, (F-75013), France, Hôpitaux Universitaires de la Pitié- Salpêtrière- Charles Foix, , Paris, France

2. INSERM UMRS 1166 & ICAN Institute for Cardiometabolism And Nutrition, Faculté de Médecine Pierre et Marie Curie, Paris, Paris, France

3. Service de Cardiologie, Hôpital La Timone, Marseille, Marseille, France

4. Service de génétique, Hôpital La Timone, Marseille, Marseille, France

5. AP-HP, Service de Génétique, , Hôpital Ambroise Paré, Boulogne-Billancourt, , France

**Mots clefs :** Cardiomyopathy, genetics, high throughput sequencing, Left ventricle non compaction

### Résumé :

Non compaction of the left ventricular cardiomyopathy (NCVG) is characterized by ventricular hypertrabeculation and clinical presentation may vary from asymptomatic patient to heart failure or sudden death. NCVG is considered as frequently of familial/genetic origin and some mutations have been described in various genes. However, the exact spectrum, prevalence of these genes and the impact of screening in clinical practice screening has not been evaluated. For this purpose, a cohort of 95 index cases (PHRC Ref: 2011-A-00987-34) was sequenced on a large panel of 110 genes (1800 target, 550 KB) after targeted capture (SeqCap EZ, Nimblegen, Roche). These genes were selected because described to be involved in cardiomyopathies and/or rhythm disturbances. After bioinformatics analysis, only non-synonymous variants in the coding regions or splicing and with frequency < 0.1%, were considered potentially pathogenic. For the titin (TTN) gene, only nonsense mutations were considered.

Among 95 index case patients enrolled, 52 (56%) are carriers of mutations in a cardiomyopathy related gene. A unique dominant mutation was found in 33 patients (35%), two potentially pathogenic variants are found in 14 patients (15%) and 5 patients (6%) carry a TTN mutation. Moreover 12/52 patients showed the presence of additional mutations in "arrhythmia" genes (not related with NCVG until now) or a TTN mutation. No definitive pathogenic mutation was identified in 35 patients (37%). The remaining index cases (7%) carry a variant of unknown significance (VUS) or mutations in genes considered until now as related to arrhythmia.

Of the 110 genes tested, at least 35 can account for the phenotype with high variability of frequencies, the most prevalent being the TTN gene (16%) and 6% for MYH7, MYH6 and HCN4 finally come LDB3, MYBPC3, RYR2, ACTC1, ACTN2, DSP, FBN1 and FLNC. A total of 79 pathogenic variants have been found in cardiomyopathies related genes including 54 new variants and 9 variants of unknown significance. In the TTN gene, 16 nonsense mutations were identified.

In conclusion, molecular analysis of 110 genes in 95 cases index with NCVG shows a mutation detection rate of 56%. These mutations are, for the vast majority of them, new mutations, their interpretation and causal link with the disease must be confirmed by a close cooperation with the Cardiologists and the possibility of segregation in families. Only this approach will achieve a reliable genetic counseling to the families.

### #3103 : Syndrome de simpson golabi behmel détecté en prénatal par cgh-array : deux nouvelles duplications délétères du gène *gpc3*

#### Auteurs :

Marie-Pierre Moizard (1), Nathalie Ronce (2), Ellen Hammouche (1), Caroline Montrieul-Puchault (3), Clarisse Baumann (4), Camille Leroy (4), Anne-Claude Tabet (4), Marie-Ange Delrue (5), Catalina Maftei (6), Emmanuelle Lemyre (6), Edouard Cottereau (1), Annick Toutain (1), Martine Raynaud (1)

1. Service de Génétique, CHRU de Tours, Tours, France
2. , CHRU de Tours, Tours, France
3. Service de Génétique, , Tours, France
4. Département de Génétique, CH Robert Debré, Paris, France
5. Service de Génétique Médicale, CHU Sainte Justine, Montréal, France
6. Service de Génétique Médicale, CHU Sainte Justine, Montréal, Canada

**Mots clefs :** Gène GPC3, Simpson Golabi Behmel, Duplication, MLPA, Transcrit, CGH-array

#### Résumé :

La technique de CGH-array, largement utilisée pour la détection en post-natal des anomalies chromosomiques déséquilibrées dont la taille est inférieure au degré de résolution du caryotype, étend désormais son champ d'applications dans le contexte du diagnostic prénatal.

Nous rapportons ici deux situations où la CGH-array effectuée au décours d'une amniocentèse réalisée sur signes d'appel échographiques chez 2 fœtus masculins révélait une duplication impliquant le gène *GPC3*.

Dans le premier cas, le fœtus présentait une macrosomie et un polyhydramnios. L'analyse de CGH-array montrait une duplication de 52 kb impliquant l'exon 7 du gène. Dans le deuxième cas, il s'agissait d'un fœtus macrosome avec néphromégalie, reins hyperéchogènes et CIV. La CGH-array mettait en évidence une duplication d'environ 825 kb couvrant en partie le gène *GPC3* et la totalité des gènes *GPC4*, *TFDP3* et *USP26* (cf poster Leroy C et al.). Dans les deux cas, la duplication était héritée de la mère.

Le syndrome de Simpson Golabi Behmel, pathologie rare liée à des mutations du gène *GPC3* (Xq26.2), est caractérisé par une avance de croissance pré- et postnatale, un hydramnios, une morphologie craniofaciale reconnaissable avec une macrocéphalie, des malformations congénitales, une viscéromégalie, un déficit intellectuel léger/modéré dans certains cas et un risque accru de tumeurs.

Les signes cliniques observés dans les deux cas étaient compatibles avec ce diagnostic.

Nous avons confirmé les deux réarrangements par des études MLPA sur ADN génomique en post natal. Une analyse fonctionnelle du transcrit en RT-PCR et séquençage à partir de sang prélevé sur tubes PAXgene, a permis de caractériser les 2 réarrangements (une duplication en tandem de l'exon 7 dans le premier cas, et un réarrangement complexe impliquant les exons 3 à 6 dans le second cas), prédisant un effet délétère de chacune des duplications par une interruption prématurée de la phase de lecture.

Les mutations du gène *GPC3* rapportées jusqu'à présent sont principalement des délétions géniques et des mutations ponctuelles de tout type siégeant dans l'un des 8 exons du gène. Seulement deux duplications partielles du gène ont été décrites dans la littérature. Singulièrement, la généralisation de l'utilisation de la CGH-array en prénatal semble conduire à l'augmentation du dépistage de ce type de mutations dans ce syndrome.

Les technologies de haute résolution (CGH-array et séquençage haut débit) sont de plus en plus utilisées pour l'identification des causes génétiques des anomalies du développement. L'évaluation précise de l'impact fonctionnel des variants génomiques identifiés est essentielle pour leur interprétation clinique. Ceci illustre l'intérêt d'une interaction étroite entre les laboratoires de diagnostic et les laboratoires proposant une expertise sur certains gènes ciblés.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #3106 : Syndrome WOREE (WWOX-Related Epileptic Encephalopathies) : description de 4 nouveaux cas et revue de la littérature

#### Auteurs :

Mylène VALDUGA (1), Aline SAUNIER (2), Juliette PIARD (3), Renato BORGATTI (4), Mélanie FRADIN (5), Yline CAPRI (6), Cyril MIGNOT (7), Aïssa MOUSTAINÉ (2), Virginie ROTH (1), Sandrine PERE (1), Peggy BOUQUET (1), Anne-Claude TABEL (6), Jonathan LEVY (8), Philippe JONVEAUX (1), Christophe PHILIPPE (1)

1. Laboratoire de Génétique Médicale, CHU, Vandoeuvre, France
2. Laboratoire de Génétique Médicale, CHRU Nancy, Vandoeuvre, France
3. Centre de Génétique Humaine, CHU, Besançon, France
4. Unità Operativa Complessa di Neuropsichiatria Età Evolutiva Neuroriabilitazione, NEUROPSICHIATRIA INFANTILE, Bosisio Parini, Italie
5. Service de Pédiatrie, CH, St Briec, France
6. Service de Génétique, Hôpital Robert Debré, PARIS, France
7. Département de Génétique, Groupe hospitalier Pitié-Salpêtrière, PARIS, France
8. Département de Génétique, Hôpital Robert Debré, PARIS, France

**Mots clefs :** WWOX, épilepsie précoce, corrélations génotype/phénotype, syndrome WOREE

#### Résumé :

Le gène *WWOX* (WW domain-containing oxidoreductase) localisé sur le chromosome 16q a été initialement décrit comme un gène suppresseur de tumeur très fréquemment altéré au niveau somatique (CNV, translocations et mutations ponctuelles) dans un grand nombre de néoplasies. L'implication de mutations germinales de ce gène dans des pathologies constitutionnelles est plus récente. Le premier réarrangement germinal à l'état hétérozygote a été rapporté chez un garçon présentant une ambiguïté sexuelle. Par la suite, l'utilisation d'approches pangénomiques d'étude du génome (ACM et séquençage d'exomes) a permis d'impliquer *WWOX* dans des pathologies neurologiques constitutionnelles de transmission autosomique récessive (AR). *WWOX* a d'abord été impliqué dans une forme d'ataxie spino-cérébelleuse (SCAR12) chez deux familles consanguines (faux-sens à l'état homozygote) sans que cette association soit confirmée dans d'autres familles. Des mutations bi-alléliques du gène *WWOX* (enfants avec au moins un des deux allèles correspondant à un non-sens ou un frameshift) sont clairement associées à une forme AR d'épilepsie sévère et précoce (9 familles WOREE, souvent consanguines). Nous décrivons 4 nouvelles familles présentant un syndrome WOREE. Une revue de la littérature permet de définir les signes cliniques très fréquents dans ce syndrome et d'établir des corrélations génotype-phénotype assez claires pour les encéphalopathies épileptiques précoces résultant d'anomalies bi-alléliques de *WWOX*.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

**#3108 : Analyse de la couverture de séquençage de listes de gènes impliqués dans des maladies génétiques hétérogènes sur une plateforme Ion Proton™ après enrichissement par capture de séquence Agilent Sure Select Inherited Diseases Panel™**

### Auteurs :

Caroline LACOSTE (1), Jean-Pierre DESVIGNES (2), David SALGADO (2), Christophe PECHEUX (3), Laurent VILLARD (2), Marc BARTOLI (2), Christophe BEROUD (3), Nicolas LEVY (3), Catherine BADENS (3), Martin KRAHN (3)

1. Département de Génétique Médicale, APHM-Hôpital Timone Enfants, MARSEILLE, France
2. INSERM UMR\_S 910, Aix Marseille Université, Marseille, France
3. Département de Génétique Médicale, APHM-Hôpital Timone Enfants, Marseille, France

**Mots clefs :** NGS, Diagnostic, Couverture, Profondeur

### Résumé :

En raison de la diversité des pathologies génétiques analysées dans notre laboratoire hospitalier, nous avons mis en place une stratégie de séquençage de nouvelle génération basée sur la génération de données de séquençage d'exome associée à une analyse informatique ciblée sur des listes de gènes, sélectionnées en fonction des groupes de pathologies (Lacoste et al. 2015). Cette stratégie permet une analyse rapide utilisant une procédure unique, et simultanée pour des échantillons de différentes indications diagnostiques. Afin d'améliorer les possibilités de multiplexage sur la plateforme Ion Proton™, nous avons évalué une autre stratégie par capture, consistant en un séquençage de nouvelle génération, ciblé sur plus de 3400 gènes actuellement référencés dans OMIM pour des pathologies monogéniques (Agilent Sure Select Inherited Diseases Panel™). Nous avons déterminé la couverture de séquençage obtenue pour les listes suivantes de gènes impliqués dans des pathologies génétiques hétérogènes: les myopathies, les neuropathies périphériques, les déficiences intellectuelles, les encéphalopathies épileptiques précoces et une liste de gènes pour lesquels l'ACMG recommande un rendu de résultats concernant la mise en évidence de découvertes fortuites.

Les données de couverture ont été obtenues à partir de 22 puces de séquençage en multiplexant 3 patients par puce. Nous considérons que les gènes d'intérêt sont suffisamment couverts quand la couverture est supérieure ou égale à 90% pour une profondeur de lecture à 20X.

Dans ce contexte, nos résultats préliminaires montrent que nos 377 gènes d'intérêt toutes listes confondues sont couverts à plus de 88% (334 gènes couverts à plus de 90% à une profondeur de lecture 20X), ce qui correspond respectivement à : 64 gènes (90.1%) parmi les 71 gènes analysés pour les myopathies ; 45 gènes (90%) parmi les 50 gènes analysés pour les neuropathies périphériques ; 156 gènes (88.6%) parmi les 176 gènes analysés pour les déficiences intellectuelles ; 21 gènes (77.7%) parmi les 27 gènes analysés pour les encéphalopathies épileptiques précoces, et 48 gènes (90.5%) parmi les 53 gènes analysés pour la liste de gènes pour lesquels l'ACMG recommande un rendu de résultats concernant la mise en évidence de découvertes fortuites.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

**#3113 : La tuberculose ganglionnaire : évaluation de la technique COBAS Taqman PCR et de la coloration à l'auramine pour la détection du Mycobacterium tuberculosis A propos d'une série Tunisienne**

### Auteurs :

Maroua FLISS (1), Soumaya RAMMEH (2), Mohamed BEN MOUSSA (3), Mohamed FERJAOUI (4), Rachida ZERMANI (2), Lamia HILA (1)

1. Département de Génétique, Faculté de Médecine de Tunis Université Tunis El Manar, Tunis, Tunisie
2. Service d'Anatomie et de Cytologie Pathologiques, EPS Charles Nicole Tunis, Tunis, Tunisie
3. Service de Microbiologie , Hôpital Militaire Tunis, Tunis, Tunisie
4. service d'ORL, EPS Charles Nicole Tunis, Tunis, Tunisie

**Mots clefs :** Cytoponction ganglionnaire, Tuberculose ganglionnaire, Mycobacterium tuberculosis, PCR.

### Résumé :

**Introduction:** En Tunisie, la tuberculose ganglionnaire (TG), qui est une des formes les plus fréquentes de tuberculose extrapulmonaire, est en constante augmentation. Cependant, son diagnostic rapide et précis continue d'être un défi. La technique de cytoponction ganglionnaire représente un moyen simple d'obtenir du matériel pour le diagnostic précoce de TG. Ces échantillons pourront être utilisés pour la confirmation bactériologique et moléculaire du diagnostic. La PCR est une technique moléculaire efficace pour la détection rapide de *Mycobacterium tuberculosis*, mais elle n'est pas largement utilisée en Tunisie.

**Matériel et méthodes :** Notre étude a été réalisée sur une série de 41 cytoponctions ganglionnaires, de patients cliniquement suspectés de TG. Tous les prélèvements ont fait l'objet d'un examen cytologique, d'une coloration à l'Auramine et d'un examen moléculaire par la technique COBAS® TaqMan® MTB.

**Résultats-discussion :** La nécrose caséuse a été observée dans 68, 3% des cas. 37, 1% des échantillons étaient positifs à l'Auramine. Le diagnostic a été confirmé par COBAS® TaqMan® MTB pour 45, 7% des patients et 50% des cas de nécrose caséuse. Ces résultats sont en accord avec la littérature, confirmant ainsi le diagnostic de TG. Parmi les échantillons négatifs à l'examen direct, 33,3% étaient positifs à la PCR, et pour les 13 positifs à l'examen direct, 69, 2% ont été confirmés par PCR.

**Conclusion :** La PCR revêt un intérêt diagnostique, en absence de résultats bactériologiques (lenteur des cultures, échantillons paucibacillaires) sachant que la TG ne cesse d'augmenter en Tunisie. Cette étude met l'accent sur l'intérêt de la PCR pour la confirmation du diagnostic chez des patients suspects, sur le plan anatomopathologique, de TG avant de commencer un traitement anti-TB afin d'éviter une thérapie abusive.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #3116 : MYODIAG : Apport du séquençage haut débit de 142 gènes de myopathies en routine pour le diagnostic clinique et moléculaire

#### Auteurs :

Valérie Biancalana (1), Adeline Normand (1), Nicolas Dondaine (1), Vincent Laugel (2), Andoni Echaniz Laguna (3), Pascal Sabouraud (4), Christine Tranchant (3), Pierre Kaminsky (5), Cyril Schweitzer (6), Aurélie Siri (7), François Boyer (8), Béatrice Lannes (9), Bruno Leheup (10), Dominique Gaillard (11), Jean Muller (1), Bernard Jost (12), Jocelyn Laporte (13), Valérie Biancalana (1)

1. Laboratoire Diagnostic Génétique, Nouvel Hôpital Civil, Strasbourg, France
2. Service de Pédiatrie, Hôpital Hautepierre, Strasbourg, France
3. Service de Neurologie, Hôpital Hautepierre, Strasbourg, France
4. Service de Pédiatrie, American Memorial Hospital, Reims, France
5. Service Maladies Orphelines et Systémiques, Hôpital Adultes Brabois, Nancy, France
6. Service de Pneumologie Pédiatrique, Hôpital Enfants Brabois, Nancy, France
7. Service de Neurologie, Hôpital Central, Nancy, France
8. Médecine Physique et réadaptation, CHU Sébastopol, Reims, France
9. Département de Pathologie, Hôpital Hautepierre, Strasbourg, France
10. Service de médecine infantile I, Hôpital Enfants Brabois, Nancy, France
11. Service de Génétique, Hôpital Maison Blanche, Reims, France
12. Platform of microarrays and sequencing, IGBMC, Illkirch, France
13. Département médecine translationnelle et neurogénétique, IGBMC, Illkirch, France

**Mots clefs :** Séquençage haut débit, myopathie, maladie neuromusculaire, diagnostic, hétérogénéité clinique, l'hétérogénéité génétique

#### Résumé :

Environ la moitié des patients atteints de myopathies ne bénéficient pas d'un diagnostic moléculaire, en partie car tous les gènes impliqués ne sont pas encore identifiés, mais aussi en raison de l'hétérogénéité génétique et clinique et de la difficulté des analyses gènes par gènes pour tous les gènes connus. Nous avons testé une approche de diagnostic en routine de 142 gènes de myopathies par capture de séquence et séquençage haut débit, incluant la détection de cibles complexes (expansions, gène dupliqué, anomalies de dosage), dans le cadre d'un projet de recherche portant sur une cohorte de 16 contrôles témoins et 130 patients adressés par les consultations du Centre de référence des maladies neuromusculaires du GrandEst. L'approche se base sur un diagnostic clinico/moléculaire intégré avec les cliniciens et histopathologistes, en fonction des gènes/variants candidats, et sur un travail en réseau au sein des laboratoires de référence. L'interprétation est encore en cours, mais avec des mutations de causalité certaine ou très probable identifiées pour 40% des 59 enfants et 32% des 71 adultes dans 29 des gènes testés, les résultats illustrent la contribution de cette approche pour un diagnostic moléculaire plus rapide et moins coûteux, ainsi que l'intérêt d'une approche large panel « d'emblée » dans les démarches de diagnostic clinique incluant des cas de diagnostics accélérés par « reverse phenotyping », c'est-à-dire des compléments d'investigations médicales ciblés consécutifs aux hypothèses génétiques. La prise en charge a été optimisée pour plusieurs patients en adéquation avec l'histoire naturelle des pathologies, allant jusqu'au bénéfice d'une thérapie disponible pour certains patients. Enfin, cette stratégie « large panel » contribue à l'élargissement des connaissances sur les myopathies au niveau des spectres cliniques, histopathologiques et génétiques connus et révèle de nouvelles associations génético-phénotypiques utiles à la compréhension des mécanismes pathologiques.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

**#3124 : L'intérêt du partage international de données d'exome dans la description clinique de maladies rares: l'exemple de mutations autosomiques récessives du gène GFER**

### Auteurs :

Sophie NAMBOT (1), Dimitar Gavrilov (2), Julien Thevenon (1), Matthew Bainbridge (3), Cyril GOIZET (4), Jaak JAEKEN (5), Ange-Line BRUEL (6), Paul KUENTZ (6), Daphne LEHALLE (1), Yannis DUFFOURD (7), Christel THAUVIN-ROBINET (1), Jean-Baptiste RIVIERE (6), Arthur BEAUDET (8), Laurence FAIVRE (1)

1. Centre de Génétique et Centre de référence «Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs», Hôpital d'Enfants, Centre Hospitalier Universitaire de Dijon, Dijon, France
2. Division of Laboratory Genetics, Department of Laboratory Medicine and Pathology, Mayo Clinic College of Medicine, Rochester, Etats-Unis
3. Human Genome Sequencing Center, Baylor College of Medicine, Houston, Etats-Unis
4. Service de Génétique médicale, Centre Hospitalier Universitaire de Bordeaux-GH Pellegrin, Bordeaux, France
5. Center for Metabolic Diseases, University Hospital Gasthuisberg, Leuven, Belgique
6. Laboratoire de Génétique Moléculaire, Plateau Technique de Biologie, Centre Hospitalier Universitaire de Dijon, Dijon, France
7. Fédération Hospitalo-Universitaire Médecine Translationnelle et Anomalies du Développement (FHU TRANSLAD), Centre Hospitalier Universitaire de Dijon, Dijon, France
8. Department of Molecular and Human Genetics, Baylor College of Medicine, Houston, Etats-Unis

**Mots clefs :** séquençage d'exome, partage de données, GFER, maladie mitochondriale

### Résumé :

Pendant des années, deux frères et sœurs ont été suivis dans le cadre d'une cataracte congénitale, d'une hypotonie et hypotrophie musculaire progressive, un retard de développement psychomoteur suivi d'une régression neurologique sévère associée à des convulsions. L'aînée mourut à 21 ans et son frère évolua vers une encéphalopathie sévère associée à une cachexie. Au cours de cette odyssée diagnostique, une atteinte mitochondriale a été suspectée au vu des résultats des analyses morphologiques des biopsies musculaires montrant des fibres COX-négatives.

Finalement, le séquençage d'exome détecta deux mutations tronquantes autosomiques récessives dans le gène *GFER*. Ce gène a déjà été assigné en pathologie humaine chez une fratrie de trois, nés de parents consanguins Marocains (Di Fonzo *et al.*, 2009) et chez une jeune fille de 19 ans (Calderwood *et al.*, 2015). Ils étaient tous porteurs de mutations récessives dans *GFER* et présentaient un phénotype similaire incluant une cataracte congénitale, une hypotonie et hypotrophie musculaire progressive, une surdité de perception, un retard de développement, des fibres musculaires COX-négatives avec une réduction modérée de l'activité du complexe IV de la chaîne respiratoire.

Grâce au partage international de données, une autre famille, suivie au Baylor College of Medicine, a pu être identifiée. Ces deux enfants présentaient une cataracte congénitale, un retard de développement psycho-moteur, une acidose lactique, et un nombre de copies d'ADN mitochondrial augmenté. Le diagnostic a aussi été réalisé par séquençage d'exome.

Ces 8 cas, issus de 4 familles, nous permettent de mieux décrire cette atteinte mitochondriale impliquant une encéphalo-myopathie progressive et une cataracte congénitale secondaire à une mutation autosomique récessive de *GFER*.

Cet article montre l'utilité du séquençage haut débit dans le diagnostic des maladies rares et souligne l'importance du partage international de données pour une meilleure définition d'entités cliniques rarement décrites.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

**#3127 : Des mutations dominantes de PUF60 causent un syndrome avec déficience intellectuelle, retard statural, cardiopathie congénitale et dysmorphie faciale caractéristique**

### Auteurs :

Salima EL CHEHADEH (1), Wilhelmina KERSTJENS (2), Laurence FAIVRE (3), Hélène DOLLFUS (1), Christel THAUVIN-ROBINET (3), Candace BENSIGNOR (4), Vincent LAUGEL (5), Jean-Baptiste RIVIERE (6), Judith ST-ONGE (6), Paul KUENTZ (6), Yannis DUFFOURD (6), Caroline BONNET (7), Matthieu ROBERT (8), Rodica ISAICO (9), Morgane STRAUB (9), Patrick CALVAS (10), Nicolas CHASSAING (10), Jolien KLEIN WASSINK-RUITER (2), Julien THEVENON (3)

1. Service de génétique médicale, Institut de génétique médicale d'Alsace (IGMA), Centre de Référence Maladies Rares «Anomalies du développement et syndromes malformatifs» de l'Est, Hôpitaux universitaires de Strasbourg, Hôpital de Hautepierre, Strasbourg, France
2. Department of Clinical Genetics, University Medical Centre Groningen, Groningen, Pays-Bas
3. FHU TRANSLAD, Centre de Référence Maladies Rares «Anomalies du développement et syndromes malformatifs» de l'Est, Centre de Génétique, CHU de Dijon, Dijon, France
4. Service de pédiatrie, CHU de Dijon, Dijon, France
5. Service de pédiatrie, Hôpitaux universitaires de Strasbourg, Hôpital de Hautepierre, Strasbourg, France
6. Laboratoire de biologie moléculaire, CHU de Dijon, Dijon, France
7. Service de cardiopédiatrie, CHU de Dijon, Dijon, France
8. Service d'ophtalmologie, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France
9. Service d'ophtalmologie, CHU de Dijon, Dijon, France
10. Service de génétique médicale, CHU de Toulouse, Hôpital Purpan, Toulouse, France

**Mots clefs :** PUF60, déficience intellectuelle syndromique, exome, cardiopathie congénitale

### Résumé :

Le gène *PUF60* (Poly-U Binding Splicing Factor 60 kDa) est localisé dans la région 8q24.3 et code pour une protéine appartenant au splicéosome. Récemment, l'haploinsuffisance de *PUF60* a été en partie associée au phénotype de la microdélétion 8q24.3, chez 7 patients présentant un retard de croissance harmonieux pré et postnatal, un colobome, une hyperlaxité articulaire, des anomalies vertébrales, cérébrales et des arcs branchiaux, une déficience intellectuelle (DI), des difficultés alimentaires, une dysmorphie faciale et des malformations cardiaques et rénales. A ce jour, un seul patient porteur d'une mutation délétère *de novo* au sein de *PUF60* (p.His169Tyr), identifiée par séquençage d'exome (WES), a été rapporté dans la littérature. Il présente une DI, une hypotrophie harmonieuse, des anomalies crâniofaciales et cardiaques sans colobome ni atteinte rénale. Nous rapportons le cas de 3 nouveaux patients porteurs de mutations hétérozygotes *de novo* dans *PUF60* identifiées par WES, incluant une mutation non-sens, p.Arg448\*, et deux mutations faux-sens, p.Val483Ala et c.24+1G>C, cette dernière affectant le site d'épissage de l'exon 1. Ces 4 patients mutés présentent une dysmorphie faciale très similaire incluant un visage carré aux joues pleines, un rétrécissement bitemporal, un front proéminent, une pointe du nez large, des narines antéversées, un philtrum long, une lèvre supérieure fine, un cou court et un rétrognathisme, ces signes étant retrouvés chez les patients porteurs de la délétion 8q24.3. Les autres signes cliniques récurrents sont une DI (4/4), des difficultés alimentaires (3/4), une cardiopathie congénitale (3/4), un retard de croissance pré et post natal (3/4), des anomalies des extrémités (3/4), et une dysplasie de hanche (2/4). On note également une microphthalmie colobomateuse bilatérale avec atrophie optique, post-hypophyse ectopique et kyste branchial chez 1 patient sur les 4. Ces données soulignent le rôle majeur de *PUF60* dans le phénotype des patients avec délétion 8q24.3, ces derniers partageant de nombreux signes cliniques en commun avec les patients mutés, notamment une cardiopathie congénitale à type de communication interventriculaire avec ou sans autre malformation, dont la survenue a été récemment attribuée en partie chez le zebrafish à une perte de fonction de *PUF60*. Par ailleurs, un seul patient muté sur les 4 présentant des colobomes iriens et rétiens bilatéraux, il ne nous est pas possible de déterminer si ce signe, présent chez 3/7 patients avec délétion, est la conséquence d'une haploinsuffisance de *PUF60*. En conclusion, nos résultats suggèrent que des mutations dominantes de *PUF60* puissent être responsables d'une forme reconnaissable de déficience intellectuelle syndromique. Cependant, s'agissant d'une petite série de patients, d'autres études sont nécessaires pour confirmer ces résultats et affiner le spectre phénotypique de ce syndrome, en particulier par la réalisation d'un examen ophtalmologique minutieux.

### #3129 : Déficit en alpha-1 antitrypsine et gènes modificateurs

#### Auteurs :

Marie-Françoise ODOU (1), Michel CREPIN (2), Farid ZERIMECH (2), Evelyne CREME (2), Pauline ALLOUCHÉRY (2), Marine ANDRES (2), Jean-Jacques LAFITTE (3), Nicole PORCHET (1), Malika BALDUYCK (1)

1. Service de Biochimie et Biologie Moléculaire HMNO ; Pôle de Biologie Pathologie Génétique, CHRU de Lille - Université de Lille, LILLE, France
2. Service de Biochimie et Biologie Moléculaire HMNO ; Pôle de Biologie Pathologie Génétique, CHRU de Lille, LILLE, France
3. Service de Pneumologie, CHRU de Lille - Université de Lille, LILLE, France

**Mots clefs :** déficit en alpha-1 antitrypsine ; gènes modificateurs ; serpins

#### Résumé :

**Introduction :** Le déficit congénital en alpha-1 antitrypsine (A1AT), antiprotéase codée par le gène *SERPINA1*, est une maladie génétique autosomique récessive qui se traduit le plus souvent par une atteinte pulmonaire de type emphysème ou BPCO (broncho-pneumopathie chronique obstructive), parfois par des troubles hépatiques voire d'autres atteintes plus rares. L'expression clinique du déficit est très variable selon les individus, y compris chez les sujets hétérozygotes. Des gènes modificateurs reconnus comme associés à la BPCO pourraient également jouer un rôle dans l'expression de cette pathologie (dont les gènes *IL10* et *SERPINE2*). Le gène *SERPINA3*, de la même famille que le gène *SERPINA1*, codant pour l'alpha-1 antichymotrypsine, pourrait également être impliqué. Le développement du séquençage de nouvelle génération (NGS) a permis d'intégrer l'ensemble de ces gènes dans un panel ciblé pour analyse sur séquenceur PGM<sup>®</sup> (Ion Torrent, Life Technologies).

**Objectif :** Compléter le diagnostic génotypique des déficits héréditaires en A1AT par l'étude de gènes candidats potentiellement impliqués dans la pathologie.

#### Matériel et méthodes :

Les échantillons d'ADN de 110 patients, dont l'exploration phénotypique de déficit en A1AT a été préalablement réalisée (dosage pondéral, mesure du pouvoir antiélastasique, phénotypage par isoélectrofocalisation) ont été sélectionnés.

Après extraction et normalisation des échantillons d'ADN, les fragments ont été amplifiés par PCR multiplex Ampliseq<sup>®</sup>. Le séquençage a été effectué sur le séquenceur Ion Torrent PGM<sup>®</sup> et l'analyse des données réalisée à l'aide des logiciels SeqNext<sup>®</sup> (JSI) et Torrent Server<sup>®</sup>.

L'analyse statistique a été réalisée grâce au logiciel SPSS<sup>®</sup>.

**Résultats et discussion :** Concernant le gène de l'*IL10*, une différence significative sur le SNP rs3024498 a été mise en évidence entre le groupe témoin et le groupe des patients déficitaires en A1AT (à l'état hétérozygote ou homozygote). Pour les 15 autres SNPs répertoriés dans les gènes étudiés en parallèle du gène *SERPINA1*, aucune différence significative n'a été mise en évidence.

DeMeo et al. (Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol., 2008,38 :114-20) avaient identifié le gène *IL10* comme potentiel gène modificateur dans la BPCO, déséquilibrant la balance cytokines proinflammatoires / anti-inflammatoires dans le développement de la BPCO. Nos résultats semblent confirmer cette hypothèse. Néanmoins pour les autres gènes modificateurs candidats, des effectifs plus grands par groupe de patients sont nécessaires pour mieux mettre en évidence leur impact potentiel.

**Conclusion :** Le séquençage de nouvelle génération appliqué à un panel de gènes ciblés apparaît comme une approche prometteuse, fiable et rapide pour l'exploration biologique des serpinopathies. Cependant, pour mieux mettre en évidence la contribution de ces différents gènes à la variabilité d'expression clinique de ces maladies génétiques, l'analyse de plus grands groupes de patients apparaît nécessaire.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

**#3130 : CHCHD10 n'est pas un gène majeur d'ataxie cérébelleuse et d'amyotrophie spinale de type III et IV**

### Auteurs :

Morgane Plutino (1), Godelieve Morel (2), Annabelle Chaussenot (3), Sylvie Bannwarth (3), Cécile Rouzier (3), Emmanuelle C Genin (4), Samira Ait-el-Mkadem (3), Sabrina Sacconi (5), Jean Pouget (6), Véronique Paquis-Flucklinger (3)

1. Service de génétique, laboratoire de cytogénétique constitutionnelle, Centre de Biologie et Pathologie Est, Hospices Civils de Lyon, Bron, France
2. Service de génétique médicale, Hôpital Archet II, CHU de Nice, Nice, France
3. Service de génétique médicale, Hôpital Archet II, CHU de Nice, IRCAN, UMR CNRS 7284/INSERM U1081/UNS, Faculté de médecine, Nice, France
4. IRCAN, UMR CNRS 7284/INSERM U1081/UNS, Faculté de médecine, Nice, France
5. Centre des maladies neuromusculaires, Hôpital Pasteur II, CHU de Nice, Nice, France
6. Service de Neurologie, Hôpital la Timone-Adultes, Marseille, France

**Mots clefs :** ataxie cérébelleuse, amyotrophie spinale, CHCHD10

### Résumé :

Le gène *CHCHD10* a récemment été impliqué dans un large spectre clinique de pathologies neurodégénératives dont la sclérose latérale amyotrophique, la démence frontotemporale, l'amyotrophie spinale de type Jokela, la maladie de Charcot-Marie-Tooth de type 2 et différentes formes de myopathie mitochondriale de début tardif ou précoce. Ce gène code pour une protéine mitochondriale située dans l'espace inter membranaire, enrichie à la jonction des crêtes mitochondriales et qui joue un rôle majeur dans leur maintien. Deux études ont été menées pour préciser le spectre clinique des pathologies associées au gène *CHCHD10*.

1) Une ataxie cérébelleuse a été mise en évidence chez 5 des 8 patients présentant la mutation p.Ser59Leu du gène *CHCHD10* dans la première grande famille que nous avons étudiée (Bannwarth *et al.*, Brain 2014). Le phénotype clinique incluait également une atteinte du motoneurone, une démence frontotemporale et une myopathie mitochondriale. Afin de savoir si *CHCHD10* est aussi impliqué dans les ataxies cérébelleuses, nous avons analysé ce gène dans une cohorte de 78 patients présentant une ataxie cérébelleuse familiale ou sporadique. Les SCAs 1, 2, 3, 6, 7 et 17 avaient été préalablement éliminées dans les formes familiales ainsi qu'une ataxie de Friedreich dans les formes sporadiques. Aucune mutation pathogène de *CHCHD10* n'a été détectée (Plutino *et al.*, 2015).

2) La mutation p.Gly66Val dans ce même gène a été retrouvée chez 55 patients atteints de neuropathie motrice spinale à début tardif (type Jokela), issus de 17 familles finlandaises (Penttilä *et al.*, Annals of Neurology 2015). Nous avons donc étudié 72 patients atteints d'amyotrophie spinale de type III et IV sans délétion, ni mutation du gène *SMN1*. Là encore, nous n'avons mis en évidence aucune mutation du gène *CHCHD10* (Morel *et al.*, 2015). Les résultats de ces deux études montrent le gène *CHCHD10* n'est pas un gène majeur d'ataxie cérébelleuse ou d'amyotrophie spinale de type III et IV. Il faudra néanmoins continuer à tester ce gène dans de plus grandes cohortes de patients, d'origines géographiques différentes, afin d'évaluer l'implication réelle de *CHCHD10* dans ces pathologies.

### #3132 : Un gène peut en cacher un autre

#### Auteurs :

ISABELLE PERRAULT (1), Catherine Caillaud (2), Nathalie Boddaert (3), Josseline Kaplan (1), Jean-Michel Rozet (1)

1. Laboratoire de Génétique Ophtalmologique, Institut Imagine, Paris, France
2. Département de Biochimie, Hopital Necker Enfants Malades, Paris, France
3. Département de Radiologie Pédiatrique, Hopital Necker Enfants Malades, Paris, France

**Mots clefs** : Ciliopathy, Amaurose congénitale de Leber, Ceroïde lipofuscinose, Diagnostique différentiel, PPT1, IFT81

#### Résumé :

L'amaurose congénitale de Leber (ACL) est une cause fréquente de cécité chez l'enfant. Le plus souvent isolée, la maladie peut aussi être le premier signe d'une ciliopathie multisystémique (syndrome de Senior Loken, de Joubert, de Saldino Mainzer, ou Alström).

Devant une ACL associée à des défaillances multisystémiques, nous avons fait le choix de recourir au séquençage du ciliome.

Nous présentons le cas d'un enfant né d'un mariage entre cousins germains vu la première fois pour dystrophie rétinienne sévère à début précoce (2 ans). Un an plus tard, des troubles du langage sont constatés faisant suspecter une hypoacousie, qui se confirme. Au demeurant, il manifeste un retard global de développement avec régression des acquisitions et une ataxie en rapport avec une atrophie cérébelleuse à l'IRM cérébrale.

Le séquençage du ciliome de cet enfant a permis l'identification d'une mutation homozygote du gène *IFT81*, codant une protéine du complexe B de transport intraflagellaire (IFT). Cette mutation entraîne un allongement de la protéine et un défaut de ciliogénèse sans anomalie de localisation subcellulaire de la protéine ou de ses partenaires les plus directs (*IFT46 IFT88 IFT25 IFT22*). A l'âge de 11 ans 1/2, à l'obtention de ces résultats, force est de constater la dégradation sévère de l'état neurologique de l'enfant, conduisant à la réalisation d'une nouvelle IRM cérébrale. Celle-ci révèle une leucodystrophie majeure qui n'a jamais été rapportée, à ce jour, dans les ciliopathies, questionnant la responsabilité de la mutation du gène *IFT81* dans la pathologie neurologique de l'enfant, en dépit d'un défaut de ciliogénèse. L'aggravation progressive de la santé du patient et la constatation de la leucodystrophie à l'IRM nous font suspecter une céréoïde lipofuscinose et amène à une exploration biochimique, d'une part, et au séquençage de l'exome, d'autre part. La première révèle un effondrement de la palmitoyl protéine thioestérase leucocytaire et l'exome révèle une mutation homozygote du gène *PPT1*, responsable de céréoïde lipofuscinose de type 1.

L'identification de deux mutations homozygotes dans deux gènes différents chez un même patient n'est pas exceptionnelle dans les unions très consanguines. Elle pose néanmoins la question du génotypage des deux frères cadets de ce patient, à ce jour en parfaite santé. Leur prélèvement avait été demandé pour l'exome. Le troisième enfant de cette fratrie, âgé de 4 ans, totalement indemne de troubles visuels ou neurologiques, s'avère génocentrique à son aîné pour *PPT1*, soulevant la question éthique du rendu de ce résultat aux parents. Cet enfant n'est pas homozygote pour la mutation du gène *IFT81*, posant la question de la contribution de chacun de ces gènes dans la pathologie multisystémique précoce du premier enfant.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #3137 : Les délétions 13q32.1 sont responsables de la microcorie congénitale

#### Auteurs :

Lucas Fares Taie (1), Arturo Ramirez-Miranda (2), Akihiko Tawara (3), Sylvie Gerber (4), Patrick Calvas (5), Josseline Kaplan (6), Elfride De Baere (7), Isabelle Raymond-Letron (8), Olivier Roche (9), Jean-Michel Rozet (1)

1. , IMAGINE Institut, Paris, France
2. , Instituto de Oftalmologia "Conde de Valenciana, Mexico City, Mexique
3. , Department of Ophthalmology, University of Occupational & Environmental Health, Kitakyushu, Japon
4. , INSERM UMR1163, IMAGINE Institut, Paris, France
5. , Service de Génétique Clinique, Hôpital Purpan, Toulouse, France
6. , Institut Imagine, Paris, France
7. , Ghent University, Ghent, Belgique
8. , University of Toulouse, Toulouse, France
9. , Department of Ophthalmology, IHU Necker-Enfants Malades, Paris, France

**Mots clefs :** Microcorie congénitale, délétions 13q32.1, GPR180, glaucome, éléments régulateurs.

#### Résumé :

La microcorie congénitale (MCOR), désigne une anomalie bilatérale du développement du muscle dilatateur de l'iris entraînant un myosis permanent et une dilatation pupillaire absente ou très modeste, même sous l'effet de mydriatiques. Cette anomalie pupillaire est toujours accompagnée d'un iris transilluminable en rapport avec une hypoplasie irienne et d'une dysgénésie de l'angle iridocornéen constituant un facteur de risque pour le glaucome. Une douzaine de pedigree de MCOR ont été rapportés dans le monde. Le gène responsable de cette dysgénésie du segment antérieur de l'œil avait été cartographié à la fin des années 1990 au locus 13q31-32 par une étude de liaison génétique dans l'une d'entre elle, mais le criblage des gènes au locus n'avait pas permis l'identification de la mutation causale.

Une recherche de CNV par array CGH nous a permis d'identifier une grande délétion de la région 13q32.1 dans cette famille, ainsi que dans 5 autres familles de MCOR. Ces délétions, bine que variables dans leur taille (35 kbp à 80 kpb), emportaient toujours tout ou partie de deux gènes ordonnés en tête-bêche, *TGDS* impliqué dans le syndrome Catel-Manzke et *GPR180* non encore relié à une pathologie. Bien que le rôle de ce dernier soit mal connu, il avait été impliqué dans le développement des cellules musculaires lisse, nous conduisant à le considérer comme un excellent candidat pour la MCOR. Le criblage de ce gène dans une cohorte d'individus recrutés pour une dysgénésie de l'angle irido-cornéen à permis l'identification d'une mutation nonsense ségrégeant dans une famille sur deux générations. Bien que les porteurs de la mutation n'aient pas eu d'anomalie de la dilatation pupillaire ou de transillumination irienne, ces résultats suggèrent que l'ablation du gène GPR180 seule, ou en association avec des éléments régulant l'expression de gènes de voisinage, est à l'origine du phénotype complet de microcorie congénitale. De ce point de vue, il est important de souligner que deux gènes impliqués dans le développement oculaire sont localisés à proximité de la région délétée. Le premier *SOX21* (MIM604974), code pour un médiateur général des effets de *SOX2* dont l'interaction avec *PAX6* est essentielle pour le développement oculaire. Le second *DCT*, joue un rôle dans la voie de biosynthèse de l'eumélanine dans les cellules pigmentées et ses altérations sont à l'origine d'anomalie du développement oculaire et de glaucomes pigmentaires. Nous avons entrepris de reproduire la délétion minimale à l'origine de microcorie (35Kb) dans une lignée cellulaire humaine et chez la souris par CRISPR/CAS9 afin d'examiner les conséquences de la perte de cette région sur l'expression des gènes alentours. Ces travaux devraient permettre de mieux comprendre le développement irien chez l'homme et améliorer la connaissance des facteurs de risque du glaucome.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #3140 : Paraplégie spastique familiale SPG49/SPG56 : mutations de CYP2U1 et conséquences sur l'interface mitochondries - réticulum endoplasmique.

#### Auteurs :

Claire Pujol (1), Christelle Tesson (2), Raphael Matusiak (2), Alexandra Durr (1), Typhaine Esteves (2), Christelle Durand (3), Filippo Santorelli (4), Jean Luc Boucher (5), Cyril Goizet (3), Alexis Brice (2), Khalid El-Hachimi (6), Frederic Darios (2), Giovanni Stevanin (6)

1. INSERM/UPMC U1127, CNRS UMR7225, Institut du Cerveau et de la Moelle épinière , paris, France
2. INSERM/UPMC U1127, CNRS UMR7225, Institut du Cerveau et de la Moelle épinière , Paris, France
3. Laboratoire Maladies Rares : Génétique et Métabolisme, EA4576, Université de Bordeaux, Bordeaux, France
4. IRCCS, Stella Maris Fondation, Calambrone, Italie
5. Laboratoire de Chimie et Biochimie Pharmacologiques et Toxicologiques, UMR 8601 CNRS, Université Paris Descartes, paris, France
6. Laboratoire de Neurogénétique de l'Ecole Pratique des Hautes Etudes, Institut du Cerveau et de la Moelle épinière , Paris, France

**Mots clefs :** PSH, CYP2U1, mitochondries, reticulum

#### Résumé :

Les paraplégies spastiques héréditaires (PSH) sont des pathologies neurodégénératives rares et hétérogènes caractérisées par la présence d'un syndrome pyramidal se traduisant par des troubles de la marche et du tonus musculaire, conséquence de la dégénérescence des neurones corticospinaux. Le syndrome pyramidal peut se présenter seul (formes pures) ou accompagné d'autres symptômes neurologiques ou extra neurologiques (formes complexes).

A ce jour, plus de 70 gènes ont été associés à la pathologie, dont de nombreux gènes impliqués dans le métabolisme lipidique. C'est le cas du gène *CYP2U1* identifié comme responsable de la PSH 49/56. *CYP2U1* code pour un des plus anciens cytochromes P450 identifiables (MIM 610670). Peu d'informations sont disponibles sur son rôle biologique : synthétisée principalement dans le thymus et le cerveau avec une double localisation dans les mitochondries et le réticulum endoplasmique (RE), *CYP2U1* semble intervenir dans l'hydroxylation des acides gras.

Une première étude menée au sein du laboratoire sur les fibroblastes d'un patient porteur d'une délétion homozygote (c.61\_73del [p.Leu21Trpfs\*19]) a permis de mettre en évidence qu'une perte de fonction entraînait un défaut de production énergétique et une altération du réseau mitochondrial.

Nous nous sommes concentrés sur les effets des mutations sur les points de contact entre mitochondries et RE appelés MAM (« Mitochondria-Associated Membranes »), essentiels pour les échanges calciques et le métabolisme lipidique.

Pour ceci nous disposons de deux nouveaux fibroblastes de patients SPG49/SPG56 porteurs respectivement de mutations hétérozygotes : p.[Cys262Arg] ; [Arg488Trp] et [c.1288+1G > A] ; p.[Gly115Ser ; Arg384Ile].

Nous avons d'abord utilisé la microscopie électronique pour analyser **les interactions entre mitochondries et RE** en mesurant les distances de contact entre les deux organites. On observe une diminution significative chez les patients.

Les MAM étant essentiels à **l'homéostasie calcique** nous avons ensuite utilisé la sonde Fura-2 pour tester les conséquences des mutations sur les échanges de calcium intra-cellulaire. Les résultats préliminaires semblent suggérer que les mutations des patients SPG49/SPG56 n'ont pas d'impact sur les échanges calciques.

Enfin, les MAM jouent un rôle dans **la synthèse des lipides**. Nous avons réalisé des tests de co-localisation entre *CYP2U1* fusionnées avec la GFP (constructions sauvages ou mutations retrouvées chez les patients) et les gouttelettes lipidiques (GL). La co-localisation diminue de manière significative lorsque *CYP2U1* est mutée.

Nous sommes actuellement en cours d'analyse du contenu lipidique des fibroblastes, par deux moyens : (1) effets des mutations sur le contenu en GL ; (2) analyse du contenu en phospholipides par spectrométrie de masse. Ces approches pourraient nous permettre d'identifier des cibles d'intérêt thérapeutique.

**#3142 : Le syndrome de délétion 3p25p26 : rôle du gène THUMP3 dans la survenue de l'épilepsie**

**Auteurs :**

Valérie MALAN (1), Nicolas CHATRON (2), Camille LOUVRIER (2), Catherine OZILLOU (3), Audrey LABALME (2), Marie VINCENT (4), Bertrand ISIDOR (4), Marlène RIO (5), Valérie CORMIER-DAIRE (5), Jeanne AMIEL (5), Stanislas LYONNET (5), Cédric LE CAIGNEC (4), Michel VEKEMANS (3), Serge ROMANA (3), Marianne TILL (2), Catherine TURLEAU (3), Gaetan LESCA (6), Laurence COLLEAUX (7), Damien SANLAVILLE (6)

1. Service d'histologie, embryologie et cytogénétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, UMR\_S1163, Institut Imagine, Université Paris Descartes, Paris, France
2. Laboratoire de Cytogénétique Constitutionnelle, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
3. Service d'histologie, embryologie et cytogénétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
4. Service de Génétique Médicale, CHU de Nantes, Nantes, France
5. Service de Génétique Médicale, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
6. Laboratoire de Cytogénétique Constitutionnelle, Hospices Civils de Lyon, Equipe TIGER, CRNL, UCBL1, INSERM U1028, CNRS UMR 5292, Lyon, France
7. UMR\_S1163, Institut Imagine, Université Paris Descartes, Paris, France

**Mots clefs :** THUMP3, épilepsie, SETD5, déficience intellectuelle

**Résumé :**

**Le syndrome de délétion 3p25p26 : rôle du gène THUMP3 dans la survenue de l'épilepsie**

N. Chatron<sup>1,5</sup>, C. Louvrier<sup>1</sup>, C. Ozilou<sup>2</sup>, A. Labalme<sup>1</sup>, M. Vincent<sup>3</sup>, B. Isidor<sup>3</sup>, M. Rio<sup>4</sup>, V. Cormier-Daire<sup>4</sup>, J. Amiel<sup>4</sup>, S. Lyonnet<sup>4</sup>, C. Le Caignec<sup>3</sup>, M. Vekemans<sup>2</sup>, S. Romana<sup>2</sup>, M. Till<sup>1</sup>, C. Turleau<sup>2</sup>, G. Lesca<sup>1,5</sup>, L. Colleaux<sup>6</sup>, D. Sanlaville<sup>1,5</sup>, V. Malan<sup>2,6</sup>

1. Laboratoire de Cytogénétique Constitutionnelle, Hospices Civils de Lyon
2. Service d'histologie, embryologie et cytogénétique, Hôpital Necker-Enfants Malades
3. Service de Génétique Médicale, CHU de Nantes
4. Service de Génétique Médicale, Hôpital Necker-Enfants Malades
5. Equipe TIGER, CRNL, UCBL1, INSERM U1028, CNRS UMR 5292
6. UMR\_S1163, Institut Imagine, Université Paris Descartes

Les délétions terminales du bras court du chromosome 3 sont associées à des signes cliniques variables allant d'un retard psychomoteur sévère à un phénotype normal selon la sous-bande impliquée. Concernant les patients porteurs d'une délétion 3p25p26, ils présentent habituellement une déficience intellectuelle sévère, un retard de croissance, une hypotonie et une microcéphalie. Une épilepsie, des malformations oculaires et une scoliose sont également souvent observées. Il existe parfois des malformations cardiaques, rénales ou des extrémités. Récemment, le gène *SETD5* a été identifié comme étant le gène majeur responsable de la déficience intellectuelle chez les patients porteurs d'une délétion 3p25p26. Le gène *SETD5* code une méthyltransférase ayant un rôle sur la condensation de la chromatine et donc sur la régulation de l'expression de nombreux gènes. Nous rapportons ici 4 nouveaux patients porteurs d'une délétion interstitielle 3p25 caractérisée par CGH-array et un patient porteur d'une mutation non-sens hétérozygote du gène *SETD5* identifiée par séquençage haut débit d'un panel de 450 gènes de déficience intellectuelle. Ces 5 patients présentent un phénotype très similaire incluant un déficit intellectuel et une dysmorphie faciale caractéristique avec un blépharophimosis et des anomalies des extrémités à type de polydactylie postaxiale. La région commune délétée chez les 4 patients porteurs de la délétion 3p25 a une taille de 110 kb et contient deux gènes : *SETD5* et *THUMP3*. De façon intéressante, l'étude de corrélation phénotype-génotype révèle que l'épilepsie n'est pas rapportée chez les patients porteurs d'une mutation dans le gène *SETD5* (n=11) alors qu'elle est retrouvée de façon quasi constante chez les patients ayant une haploinsuffisance de *THUMP3* (10/13). Le gène *THUMP3* code une protéine à activité méthyltransférase d'expression ubiquitaire. Sa fonction précise n'est pas connue. En conclusion, nous émettons l'hypothèse que le syndrome de délétion 3p25p26 correspond à un syndrome de gènes contigus. L'haploinsuffisance du gène *SETD5* est à l'origine de la déficience intellectuelle et celle du gène *THUMP3* de l'épilepsie.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #3147 : Délétion du gène *WDR45* en Xp11.23 chez un garçon atteint d'encéphalopathie épileptique précoce

#### Auteurs :

Affef ABIDI (1), Cécile MIGNON-RAVIX (2), Pierre CACCIAGLI (2), Mathieu MILH (3), Laurent VILLARD (2)

1. GMGF-UMR\_S910, INSERM, Aix-Marseille Université, Marseille, France
2. GMGF-UMR\_S910,, INSERM, Aix-Marseille Université, Marseille, France
3. Service de neurologie pédiatrique,, APHM, Hôpital d'Enfants de la Timone, Marseille, France

**Mots clefs :** *WDR45*, épilepsie néonatale, dégénérescence neuronale avec accumulation de fer

#### Résumé :

Des mutations dans le gène *WDR45* ont été récemment décrites chez des patients atteints de dégénérescence neuronale avec accumulation de fer (NBIA). Ces NBIA sont des pathologies très hétérogènes aussi bien génétiquement, en impliquant de nombreuses voies cellulaires, que phénotypiquement. Des mutations dans le gène *WDR45* sont à l'origine d'une pathologie appelée BPAN (beta-propeller protein-associated neurodegeneration), un type particulier de NBIA. Elles sont caractérisées par une encéphalopathie infantile accompagnée par une neurodégénérescence à l'âge adulte et des dépôts de fer dans les ganglions de la base. Les mutations sont décrites presque exclusivement chez les filles, ce qui suggère une mortalité précoce au cours du développement. La plupart de ces patients présentent des crises d'épilepsie à différents âges et particulièrement au cours de l'enfance.

Les encéphalopathies épileptiques précoces (EEP) sont un type sévère et rare d'épilepsies débutant durant la période néonatale et infantile. Elles se manifestent par des crises récurrentes associées à un électroencéphalogramme intercritique altéré et un développement neurologique très dégradé. Plusieurs gènes sont impliqués dans les EEP mais la majorité des patients demeurent sans diagnostic étiologique. Nous avons constitué une cohorte nationale multicentrique de 402 patients EEP sans malformation corticale ni anomalie métabolique. Nous avons identifié une délétion *de novo* localisée en Xp11.23 chez un garçon dans cette cohorte et concernant tout le gène *WDR45*.

Nous avons donc identifié un patient de sexe masculin atteint d'une forme plus sévère et plus précoce de BPAN. Le diagnostic initial montre un IRM normal avec un phénotype d'EEP. L'accumulation de fer a été détectée chez ce patient à partir de 5 ans. Notre étude révèle que les délétions de *WDR45* sont viables chez les garçons et que ces patients peuvent initialement recevoir un diagnostic d'EEP.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

**#3152 : Mutation en mosaïque de KITLG dans une hyperpigmentation linéaire naevoïde congénitale non progressive.**

### Auteurs :

Arthur SORLIN (1), Annabel MARUANI (2), Yannis DUFFOURD (1), Paul KUENTZ (1), Judith SAINT-ONGE (1), Thibaut JOUAN (1), Laurence FAIVRE (3), Jean-Baptiste RIVIERE (1), Pierre VABRES (4)

1. EA4271 GAD, Université Bourgogne-Franche Comté, Dijon, France
2. Service de Dermatologie, CHU de Tours, Université François Rabelais, Tours, France
3. Centre de référence Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs, CHU de Dijon, Dijon, France
4. Service de Dermatologie, CHU de Dijon, Dijon, France

**Mots clefs :** Hyperpigmentation, mosaïque, KITLG, Lignes de Blaschko, FPHH

### Résumé :

Le gène *KITLG* (c-KIT Ligand) participe à la régulation de la pigmentation cutanée, en contrôlant la prolifération des mélanocytes et la synthèse de la mélanine. Chez l'homme, des mutations faux-sens de *KITLG* ont été identifiées dans des cas d'hyperpigmentation progressive familiale avec ou sans hypopigmentation (Familial Progressive Hyper-and Hypopigmentation, FPHH), de transmission autosomique dominante. La FPHH est caractérisée par des macules hyperpigmentées diffuses, d'apparition précoce, augmentant en nombre et en taille jusqu'à l'âge adulte, associées à des taches café-au-lait de plus grande taille et des macules hypopigmentées. Il s'agit dans la FPHH de mutations gain-de-fonction de *KITLG* localisées dans le domaine de liaison de KITLG à son récepteur. Elles entraînent une augmentation de l'activité tyrosinase et de la concentration mélanocytaire en mélanine. Nous avons réalisé un séquençage d'exome chez un patient présentant une hyperpigmentation cutanée linéaire congénitale suivant les lignes de Blaschko, non-évolutive, isolée, sans hypopigmentation associée. Une mutation *de novo* en mosaïque de *KITLG* (c.329A > G ; p.Asp110Gly) a été mise en évidence dans les fibroblastes cutanés du patient, représentant 28% des allèles. Bien que nous n'ayons pas de données fonctionnelles, le rôle pathogène de cette mutation en mosaïque est vraisemblable, expliquant la topographie de l'atteinte cutanée qui suivait les lignes de Blaschko. Il s'agit la première mutation de *KITLG* située à distance du *hotspot* mutationnel du domaine de liaison, dans la troisième hélice alpha, et de la première mutation en mosaïque de *KITLG*. De plus, chez ce patient, l'hyperpigmentation était congénitale, non progressive, contrairement à la FPHH. Ces résultats permettent d'élargir le spectre clinique des troubles de la pigmentation associés aux mutations de *KITLG*. Ils pourraient également améliorer la compréhension de la régulation de la pigmentation cutanée.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #3153 : Apport du NGS dans les surcharges en fer inexpliquées : mutations dans le gène codant pour la céruloplasmine

#### Auteurs :

Houda HAMDI-ROZE (1), Marie-Pascale BEAUMONT-EPINETTE (1), Martine ROPERT (2), Wilfrid CARRE (1), Véronique DAVID (1), Olivier LOREAL (3), Zeineb BEN ALI (3), Edouard BARDOU-JACQUET (3), Anne-Marie JOUANOLLE (1)

1. Laboratoire de Génétique Moléculaire et Génomique, CHU de Rennes, Rennes, France
2. Laboratoire de Biochimie et Toxicologie, CHU de Rennes, Rennes, France
3. Centre de Référence des surcharges en fer rares d'origine génétique, CHU de Rennes, Rennes, France

**Mots clefs :** surcharge en fer, hémochromatose, CP, SLC40A1, NGS

#### Résumé :

Les surcharges en fer d'origine génétique regroupent un ensemble de pathologies hétérogènes ayant pour point commun l'augmentation de la ferritine plasmatique. La mutation p.Cys282Tyr du gène *HFE* est la mutation la plus fréquente, à l'état homozygote elle explique près de 90% des cas d'hémochromatose en France. Lorsque cette mutation est absente ou présente uniquement à l'état hétérozygote, une analyse des autres gènes intervenant dans le métabolisme du fer est alors initiée.

Depuis 2014 au CHU de Rennes, une analyse par séquençage massif sur Ion PGM™ grâce à la technologie AmpliSeq™ (Thermo Fischer Scientific™) a été mise en place afin d'étudier en simultané un panel de 12 gènes impliqués dans les surcharges en fer. Cette approche groupée nous a permis de mettre en évidence de nombreux variants, notamment sur le gène *CP* codant pour la céruloplasmine. Il s'agit d'une metalloprotéase à activité ferroxidase cuivre dépendante. Elle interagit avec la ferroportine et intervient dans l'export du fer du système réticulo-endothélial, des hépatocytes et du cerveau. Les mutations retrouvées à l'état homozygote ou hétérozygote composite dans cette protéine entraînent des acéruplasminémies, dont la principale caractéristique, outre la surcharge en fer hépatique, est l'atteinte neurologique due à l'accumulation de fer dans le cerveau.

En 18 mois d'analyse, plus de 300 patients adressés au Centre de Référence des surcharges en Fer rares d'origine génétique du CHU de Rennes ont été séquencés. L'analyse génétique a été menée principalement chez des patients présentant un phénotype d'hémochromatose de type IV ou « maladie de la ferroportine », associant un taux de ferritine élevé à un coefficient de saturation de la transferrine normal ou augmenté et à une surcharge en fer hépatique retrouvée à l'IRM. 30 variants non rapportés dans la littérature ou avec une fréquence allélique inférieure à 1% ont été identifiés à l'état hétérozygote dans le gène de la céruloplasmine chez des patients pour lesquels aucune mutation dans le gène codant pour la ferroportine n'a été mise en évidence. Parmi ces variants dans le gène *CP*, 15 sont situés dans des exons et entraînent un changement d'acide aminé. Leur caractère délétère a été estimé grâce aux logiciels de prédiction de pathogénicité, aux dosages biologiques associés de la céruloplasmine plasmatique et à l'étude de la ségrégation familiale.

Ainsi, outre la rapidité d'analyse d'un grand nombre de gènes chez les patients avec surcharge en fer rare, le séquençage massif sur ce panel ciblé nous a également permis d'identifier des mutations non recherchées d'emblée, et dont la prévalence s'avère plus importante chez les patients adressés pour suspicion de maladie ferroportine que dans la population générale.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #3155 : Approche Next Generation Sequencing (NGS) pour le diagnostic moléculaire des dystonies, de la maladie de Parkinson, des dégénérescences lobaires fronto-temporales et de la sclérose latérale amyotrophique

#### Auteurs :

Fabienne CLOT (1), Jean-Noël PEUVION (2), Laurène TISSIER (2), Gwendoline LEROY (3), Guillaume BANNEAU (2), Eric LEGUERN (2), Cécile CAZENEUVE (2)

1. UF de Neurogénétique Moléculaire et Cellulaire, Département de Génétique et Centre National de Référence des Démences Rares, AP-HP, Hôpitaux Universitaires La Pitié Salpêtrière-Charles Foix, Paris, France
2. UF de Neurogénétique Moléculaire et Cellulaire, Département de Génétique, AP-HP, Hôpitaux Universitaires La Pitié Salpêtrière-Charles Foix, Paris, France
3. UF de Génétique des Maladies Métaboliques et des Neutropénies Congénitales, Département de Génétique, AP-HP, Hôpitaux Universitaires La Pitié Salpêtrière-Charles Foix, Paris, France

**Mots clefs :** NGS, Capture, Diagnostic moléculaire, Dystonies, Maladie de Parkinson, Dégénérescences lobaires fronto-temporales, Sclérose latérale amyotrophique

#### Résumé :

L'Unité Fonctionnelle de Neurogénétique réalise le diagnostic moléculaire d'une vingtaine d'affections neurodégénératives et neurologiques héréditaires, dont les dystonies (DYT), la maladie de Parkinson (PARK), les dégénérescences lobaires fronto-temporales (DFLT) et la sclérose latérale amyotrophique (SLA). Jusqu'à présent, l'exploration des patients atteints de ces pathologies se limitait à l'analyse par séquençage Sanger des séquences codantes des gènes les plus fréquemment impliqués. L'émergence du séquençage haut-débit permet d'envisager des stratégies plus ambitieuses visant à explorer, de façon plus rapide et moins coûteuse, un plus grand nombre de gènes. Aujourd'hui nous mettons en place une approche NGS qui permet l'analyse de 55 gènes. Nous avons choisi d'analyser ces 4 pathologies par un seul panel car certaines d'entre elles sont causées par des mutations de mêmes gènes (DYT et PARK, PARK et DFLT, DFLT et SLA). Ainsi, pour chaque patient testé, nous analyserons un sous-groupe de gènes en fonction du phénotype du patient.

Nous avons choisi la technique d'enrichissement par double capture (NimbleGen). Le panel de 55 gènes représente 166 kb et comporte 798 régions ciblées correspondant aux exons et aux jonctions exons-introns incluant 20 nucléotides introniques. Le séquençage est effectué sur un MiSeq (Illumina) et l'analyse bioinformatique des variants est réalisée avec le logiciel développé avec la société GenoDiag (ICM, Paris).

Les premiers résultats réalisés sur 15 patients ont montré une couverture insatisfaisante (<30X) pour une trentaine de régions (3.7%). Quarante-vingt pourcent des régions non couvertes sont des exons 1 riches en GC. Les patients sélectionnés étaient tous porteurs d'une mutation qui avait été préalablement identifiée en séquençage Sanger. Excepté une mutation non identifiée due à une faible couverture, toutes les mutations ont été retrouvées. Nous avons réalisé un second design du panel, dont les analyses sont en cours, afin d'améliorer la couverture des régions non couvertes.

Par ailleurs, une seconde mutation à l'état hétérozygote du gène *LRRK2* a été identifiée chez un patient atteint de maladie de Parkinson et porteur d'une mutation à l'état homozygote du gène *PARK2*. La mutation du gène *LRRK2* est décrite dans la littérature et des études fonctionnelles l'ont rapportée comme étant délétère. Ce résultat suggère la possibilité d'un digénisme chez ce patient atteint de maladie de Parkinson avec un âge de début très précoce (14 ans).

Avec l'apport du NGS, on peut penser identifier la(es) mutation(s) causale(s) dans un nombre plus élevé de patients avec des maladies neurodégénératives génétiquement déterminées et aussi pour certains de mieux comprendre leur phénotype particulier par l'identification de variants dans plusieurs gènes du panel. Les études familiales de ségrégation ainsi que les corrélations phénotype-génotype seront donc primordiales pour optimiser le diagnostic et le conseil génétique du patient.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

**#3158 : Diagnostic des cardiomyopathies héréditaires par capture ciblée puis séquençage de 45 gènes chez 115 patients. Apport de l'automatisation du protocole en pratique hospitalière.**

### Auteurs :

Flavie ADER (1), Valérie Jobic (2), Céline Ledeuil (2), Pascale Richard (1), sur les Cardiomyopathies Centres nationaux de référence et de compétence (2)

1. UF Cardiogénétique et Myogénétique, Service de Biochimie Métabolique, Paris, (F-75013), France, Hôpitaux Universitaires de la Pitié- Salpêtrière- Charles Foix, Paris, France

2. UF Cardiogénétique et Myogénétique, Service de Biochimie Métabolique, Paris, (F-75013), France, Hôpitaux Universitaires de la Pitié- Salpêtrière- Charles Foix, Paris, France

**Mots clefs :** Cardiomyopathies, Séquençage haut débit, Automatisation

### Résumé :

Les Cardiomyopathies héréditaires (CM) sont dues à une atteinte de la structure de la cellule cardiaque. La plupart sont des formes familiales avec une transmission autosomique dominante et une pénétrance incomplète. Cinq gènes (MYH7, MYBPC3, TNNT2, TNNI3, MYL2) sont mutés chez 40 % des patients avec CM hypertrophique et 15 % avec CM dilatée. Une approche de séquençage nouvelle génération (NGS) par capture ciblée avec un design à façon de 45 gènes a été développée pour tester les patients restés sans mutation. Le but de ce travail vise à évaluer l'apport de cette approche en termes de diagnostic en pratique courante et la faisabilité de son automatisation.

Cent quinze patients exclus des gènes majeurs ont bénéficié d'un séquençage ciblé des exons codants de 45 gènes impliqués dans les cardiomyopathies (330 kbases, 1053 cibles). La validation du design a été faite par détermination du pourcentage de séquences dans les cibles et la distribution de la couverture des régions. La reproductibilité intra run et inter-runs a également été évaluée. Après hybridation avec les sondes spécifiques (SeqCap EZ System, NimbleGen) puis capture, le séquençage a été réalisé sur Miseq® (Illumina) par pooling de 8 ou 24 patients sur des Flow cell de 300 et 500 cycles (8 runs). L'analyse Bio-informatique a été confiée à la société Genodiag (IPEPS-ICM). Dans le but d'automatiser cette technique, 2 automates (Nx®, Beckman et Ascia®, Primadiag) ont été testés pour leur débit, les temps techniques et la qualité des résultats.

L'analyse des résultats a permis d'obtenir un diagnostic moléculaire chez 45 % des patients négatifs sur les 5 gènes majeurs, ce qui porte le pourcentage total de détection de mutations à 70 %. Le spectre des mutations est élargi du fait de l'augmentation du nombre de gènes mais aussi de par la nature des mutations détectées (SNVs, Insertions /délétions et CNVs). Des analyses de corrélations phénotype- génotype permettront de mieux comprendre la physiopathologie des cardiomyopathies. L'automatisation de la technique permet la préparation des bibliothèques en 4h30 à 6h30, la purification de PCR en 30 min à 1h30 et la purification des produits capturés en 3 h, selon le nombre d'échantillons. L'automatisation des préparations de bibliothèques et des étapes de capture a montré qu'elle permettait un gain de temps et une amélioration de la reproductibilité de la technique.

En conclusion, le NGS par capture ciblée a permis d'étendre le nombre de gènes étudiés dans le cadre de screening chez les cas index. Le dialogue avec les cliniciens reste toutefois primordial pour l'évaluation du phénotype et la juste prescription d'un panel élargi de gènes. Ce travail montre que l'approche de capture ciblée puis séquençage est bien adaptée à la pratique hospitalière et que l'automatisation la rend rapide et reproductible permettant ainsi d'améliorer le diagnostic des patients et le conseil génétique aux familles.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

**#3164 : Le Séquençage Nouvelle Génération (NGS) dévoile un nouveau mécanisme moléculaire dans un gène connu de vitréorétinopathies familiales et identifie un nouveau gène**

### Auteurs :

Cyril BURIN DES ROZIERES (1), Pierre-Raphael ROTHSCHILD (2), Georges CAPUTO (3), Amandine BARJOL (3), Valérie LAYET (4), Audrey PUTOUX (5), Tiffany GHIOTTI (6), Céline LEROUX (6), Christine BOLE (7), Sandrine MARLIN (8), Hélène DOLLFUS (9), Valérie PELLETIER (9), Elise SCHAEFER (10), Josseline KAPLAN (8), Brigitte NEDELEC (1), Géraldine VIOT (11), Marion GERARD (12), Michel VIDAUD (6), Marc DELPECH (6), Jean-Michel ROZET (1), Arnold MUNNICH (8), Jean-Paul BONNEFONT (13), Antoine BREZIN (2), Sophie VALLEIX (13)

1. Laboratoire de Génétique ophtalmologique (LGO), INSERM UMR1163, IMAGINE – Institut des maladies génétiques, Paris, France
2. Département d'ophtalmologie, Groupe Hospitalier Cochin-Hôtel-Dieu, Paris, France
3. Département ophtalmo-pédiatrique, Fondation Ophtalmologique Adolphe de Rothschild, Paris, France
4. Consultation de Génétique, Groupe Hospitalier du Havre, Le Havre, France
5. Service de Génétique, Hospices Civils de Lyon, Hôpital Femme-Mère-Enfant, Bron, France
6. Laboratoire de Biochimie et Génétique Moléculaire, Groupe Hospitalier Cochin-Hôtel-Dieu, Paris, France
7. Plateforme de génomique, IMAGINE – Institut des maladies génétiques, Paris, France
8. Service de Génétique médicale, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
9. Strasbourg, France; Centre de Référence pour les Affections Rares en Génétique Ophtalmologique (CARGO), Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
10. Service de Génétique médicale, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
11. Service de Génétique, Maternité Port-Royal, Paris, France
12. Service de Génétique clinique, Centre Hospitalier universitaire de Caen, Caen, France
13. Service de Génétique moléculaire, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France

**Mots clefs :** Séquençage Nouvelle Génération, vitréorétinopathies, CNVs, diagnostic moléculaire, exome

### Résumé :

Les vitréorétinopathies familiales, majoritairement de transmission autosomique dominante, sont des pathologies dont les mécanismes physiopathogéniques sont variés mais toutes ont en commun l'atteinte du vitré et de la rétine. Ces pathologies sévères prédisposent à la survenue de décollements de rétine majeurs conduisant à la cécité dès le plus jeune âge. Pour améliorer le dépistage et la prise en charge thérapeutique de ces enfants à risque, le diagnostic moléculaire est indispensable mais celui-ci est infructueux pour plus de 60% des patients. Nous avons développé depuis 2014 une approche NGS-ciblée avec un panel comprenant les 11 gènes connus jusqu'à présent (*COL2A1*, *COL11A1*, *COL9A1*, *COL9A2*, *VCAN*, *KCNJ13*, *FZD4*, *LRP5*, *TSPAN12*, *NDP*, *ATOH7*). Cette approche a permis la détection d'anomalies nucléotidiques très variées y compris des indels dans des régions d'homopolymères, mais également une mutation faux-sens en mosaïque altérant une glycine dans le domaine hélicoidal du *COL2A1* et survenue *de novo* chez un enfant présentant un Stickler oculaire unilatéral sans antécédents familiaux. L'analyse de la profondeur des « reads » nous a permis de détecter des anomalies structurales inconnues de type CNV (Copy Number Variation) correspondant à des délétions hétérozygotes de 10,5 et 3,4 kb altérant, pour la première fois, un gène de notre panel. Les points de cassure de chacune de ces délétions non récurrentes ont été caractérisés nous permettant d'avancer des hypothèses sur les mécanismes moléculaires sous-jacents. Par ailleurs, une approche de type « exome » a été conduite pour une famille négative pour notre panel NGS, et a permis l'identification d'un nouveau gène. En conclusion, les nouvelles approches de séquençage nouvelle génération ont été performantes à la fois pour révéler un nouveau mécanisme pathogénique dans un gène connu et pour identifier un nouveau gène, permettant ainsi un diagnostic moléculaire définitif pour des cas de vitréorétinopathies qui étaient, jusqu'alors, inexplicables.

### Auteurs :

Christine Bellanné-Chantelot (1), Cécile Saint-Martin (1), Cécile Ciangura (2), Florence Bellanger (1), Séverine Clauin (1), Gwendoline Leroy (1), Christelle Vauray (1), José Timsit (3)

1. Département de Génétique, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France
2. Service de Diabétologie, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France
3. Département de Diabétologie, Hôpital Cochin-Port Royal, Paris, France

**Mots clefs :** Diabète monogénique, MODY, Next-generation sequencing, NGS

### Résumé :

**Introduction.** Les diabètes monogéniques représentent 1-2 % des diabètes et se caractérisent par une grande hétérogénéité clinique et génétique. Le diabète MODY (*maturity-onset diabetes of the young*) qui est un diabète de survenue précoce, avant l'âge de 40 ans, non auto-immun et de transmission autosomique dominante, constitue la forme la plus fréquente des diabètes monogéniques. Il est associé à des mutations d'une dizaine de gènes responsables d'anomalies primitives de l'insulino-sécrétion. La confirmation moléculaire d'un diabète MODY a des conséquences pronostiques et thérapeutiques qui dépendent du gène impliqué. La méthode classique (séquençage Sanger), restreinte le plus souvent à l'analyse des 2 ou 3 gènes de MODY les plus fréquents, ou des gènes suggérés par l'histoire clinique, a un rendement diagnostique de 10-15%. L'objectif de ce travail était d'évaluer l'apport du séquençage nouvelle génération (NGS) dans le diagnostic des MODYs.

**Méthodes.** 1100 patients (825 adultes, 275 âgés <18 ans) ayant une histoire clinique évocatrice de MODY (≥2 cas diabétiques avant 40 ans, absence d'anticorps) ont été analysés par NGS par PCR multiplexe (Kit MODY-MASTR™, Multiplicom) des exons ± 30 pb et des régions 5'UTR de 7 gènes (*GCK*, *HNF1A*, *HNF4A*, *HNF1B*, *ABCC8*, *KCNJ11* et *INS*) soit un total de 40 kb - Run de 96 patients sur une plateforme MiSeq avec la chimie v3-600 cycles (Illumina). Recherche de mutations ponctuelles et d'indels par le logiciel SeqPilot.

**Résultats.** 1. Le diagnostic de MODY a été confirmé dans 275/1100 cas (42% *GCK*, 25% *HNF1A*, 10% *HNF4A*, 6% *HNF1B*, 10% *ABCC8*, 4% *KCNJ11*, 3% *INS*), soit un taux de détection de mutations de 25% (adultes 20%, cas pédiatriques 39%). 2. La mise en évidence de mutations de gènes dont l'implication n'était pas prédite par le phénotype remet en question les corrélations génotype/phénotype antérieurement décrites dans les MODYs. 3. Une fréquence élevée de mutations affectant les gènes *ABCC8/KCNJ11* codant les sous-unités du canal potassique a été observée (14% des diagnostics vs 1% dans la littérature). 4. Environ 1% des patients mutés étaient porteurs de mutations considérées comme pathogènes dans deux gènes différents, suggérant l'existence de cas de digénisme. 5. Toutefois ce criblage à grande échelle augmente la part des variants de signification inconnue (VSI) identifiés. L'analyse par NGS de 1100 patients sur un panel d'uniquement 7 gènes nous a amené à classer 18% des mutations identifiées comme VSI.

**Conclusions.** L'approche NGS permet d'augmenter le taux de détection des MODYs, souvent classés à tort comme diabète de type 1 ou de type 2. Nos résultats remettent en question les fréquences relatives des gènes impliqués dans les MODYs et les corrélations phénotypes/génotypes antérieurement établies. La fréquence des VSI pose des difficultés d'interprétation et souligne l'importance d'un dialogue étroit entre généticiens et cliniciens et la nécessité de développer des études fonctionnelles.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #3169 : Apport du séquençage haut débit dans la déficience intellectuelle : étude d'un panel de 450 gènes

#### Auteurs :

Camille Louvrier (1), Amélie Piton (2), Audrey Labalme (1), Elsa Nourisson (3), Raphaëlle Lamy (1), Claire Feger (3), Marianne Till (1), Jean Muller (3), Patrick Edery (4), Jamel Chelly (2), Damien Sanlaville (4), Jean-Louis Mandel (2), Gaetan Lesca (4), Bénédicte Gerard (3)

1. Service de Génétique, GHE, Hospices Civils de Lyon, Bron, France
2. Laboratoire de diagnostic génétique; IGBMC, UMR7104/INSERM U964, CHU de Strasbourg; Université de Strasbourg, Strasbourg, France
3. Laboratoire de diagnostic génétique, CHU de Strasbourg, Strasbourg, France
4. Service de Génétique; Equipe TIGER, INSERM U1028, CNRS UMR 5292, GHE, Hospices Civils de Lyon; CNRL, UCBL1, Bron, France

**Mots clefs :** NGS, panels, Déficience intellectuelle, diagnostic

#### Résumé :

La déficience intellectuelle (DI) concerne 1,5 à 2% des enfants et est souvent accompagnée soit de troubles du spectre autistique (TSA) soit d'épilepsie (EPI). Elle se caractérise par une très grande hétérogénéité génétique, rendant le diagnostic étiologique difficile. L'analyse comparative sur puce à ADN (ACPA) est à l'heure actuelle l'examen réalisé en 1<sup>ère</sup> intention. Elle ne permet cependant de poser un diagnostic génétique que chez seulement 12-15% des patients avec DI sévère. Des approches par séquençage d'un panel de 220 gènes, puis de 275 gènes, ont elles démontré un taux diagnostique proche de 25 % (*Redin et al., J Med Genet, 2014, et Piton, Gérard et al., non publié*).

Nous présentons ici les premiers résultats obtenus à l'aide d'un panel de 450 gènes impliqués dans la DI/TSA/EPI. Parmi ces gènes, 256 ont une implication pathogène avérée. Les autres gènes ont été impliqués au moins une fois dans l'une des entrées cliniques DI/TSA/EPI. L'entrée clinique élargie et la liste des gènes a été validée collectivement au sein du réseau DI de l'ANPGM.

La préparation des banques d'ADN a été réalisée à l'aide du kit SureSelect XT (Agilent) et le séquençage par le séquenceur NextSeq 500 ou HiSeq2500 (Illumina). L'analyse bioinformatique primaire a été réalisée par le logiciel *BWA GATK WGS apps* et *Variant Studio* (Illumina). Une cohorte de 61 patients a été étudiée. L'étude préalable en ACPA de chaque patient permet de valider la technique de détection des variations de nombre de copies (CNV) sur ce panel.

L'analyse des couvertures de ce panel de gènes de 2,05 Mb montre que plus de 99 % des bases sont séquencées avec une profondeur supérieure à 20X. La profondeur moyenne de lecture par patient est de 180X sur le NextSeq500 et de 244X sur l'HiSeq2500. L'étude des 61 patients a permis de détecter une mutation clairement pathogène chez 15 patients (25%). Ces variations comprennent aussi bien des gènes classiquement impliqués en pathologie (*SCN2A, SLC2A1, IQSEC2, PDHA1, SYNGAP1, MBD5, SMS, NFIX, FOXP1, TCF4, SHANK3*) que des gènes identifiés plus récemment (*SATB2, CHD2, ADNP, et SETD5*). Dix autres variants potentiellement pathogènes ont également été identifiés et sont en cours d'étude (soit 16 % de diagnostic supplémentaire potentiel). Cette 1<sup>ère</sup> étude menée dans un contexte diagnostique et collaboratif montre des résultats très satisfaisants et 104 nouveaux patients vont être étudiés dans les semaines à venir. D'un point de vue technique, l'étude des couvertures pointe peu de régions mal couvertes. L'apport de ce panel comparativement au panel 275 gènes reste à être conforté sur un nombre plus important de patients. L'intérêt du séquençage haut débit dans la DI a déjà été démontré dans plusieurs publications, notamment par l'étude d'exomes en trio voire de génomes complets. Ce panel de gènes représente une alternative efficace et moins coûteuse, plus facile à entreprendre dans le cadre d'un laboratoire de diagnostic.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #3170 : Développement d'une stratégie de séquençage à haut débit pour le diagnostic moléculaire des déficiences intellectuelles

#### Auteurs :

Giulia Barcia (1), Sylvain Hanein (2), Marlène Rio (1), Ghislaine Royer (1), Adrienne Elmorjani (1), Cyril Burin des Roziers (1), Cécile Fourrage (1), Christine Bole-Feysot (2), Patrick Nitschke (2), Laurence Colleaux (2), Julie Steffann (1), Arnold Munnich (1), Jean-Paul Bonnefont (1)

1. Service de Génétique Médicale, Hôpital Necker - Enfants Malades, Paris, France
2. Institut Imagine, Hôpital Necker - Enfants Malades, Paris, France

**Mots clefs** : séquençage à haut débit, déficience intellectuelles

#### Résumé :

Introduction : Les déficiences intellectuelles (DI) constituent un groupe de pathologies génétiquement et cliniquement hétérogènes caractérisées par un fonctionnement intellectuel inférieur à la moyenne et par une limitation significative des capacités adaptatives. Les DI touchent 1-2% de la population et représentent le premier motif de consultation au sein du service de Génétique Clinique de l'Hôpital Necker avec environ 400 patients par an. Les stratégies de séquençage d'exome/génome se sont avérées efficaces pour l'identification des causes génétiques des DI mais restent coûteuses et peuvent donner lieu à des découvertes fortuites et des résultats incertains. Pour ces raisons, elles sont moins pertinentes dans le contexte de diagnostic génétique hospitalier. Grâce à la collaboration entre le Service de Génétique de l'Hôpital Necker et l'Institut Imagine, nous avons développé une stratégie de re-séquençage haut débit ciblé, dédiée aux DI.

Méthodes: Nous avons inclus 100 cas index (83 singleton et 17 trios patient-parents) et 12 témoins avec des mutations déjà connues. Le séquençage ciblé de 253 gènes associés aux DI a été réalisé par technique de capture (SureSelectXT Target Enrichment Reagent Kit Agilent, Illumina HiSeq2500) chez les 146 individus. Résultats: Pour tous les individus, la couverture des régions ciblées était > 99.8%. Les 12 mutations connues (incluant 9 mutations ponctuelles et 3 indels) ont été correctement identifiées chez les contrôles positifs. Nous avons identifié des variants pathogènes ou probablement pathogènes chez 22% des patients dans les gènes SATB2, STXBP1, MEF2C, PTPN1, SMC1A, SHANK3, ACTB, ABCD1, HCFC1, NFIX, KANSL1, ASXL1, KMT2D, PCDH19, DOCK8, OCRL avec une majorité de variants de novo dans des gènes associés à des tableaux autosomiques dominants de DI. Pour 6% des individus, des variants de signification inconnue ont été mis en évidence et des études complémentaires sont en cours.

Conclusions: Avec un rendement diagnostique de 22% dans une cohorte de 100 patient étudiés dans une période d'un an, la stratégie de séquençage haut débit ciblé optimise le screening moléculaire des DI. Dans un contexte économique contraint, le choix d'inclusion « cas index » ou « trio » repose sur une discussion clinico-biologique pour chaque famille à tester. La stratégie « panel ciblé » réduit les coûts et le nombre de résultats incertains ou fortuits par rapport au séquençage d'exome/génome entier. L'interprétation des données générées par cette approche est complexe et impose une interaction entre cliniciens, biologistes et chercheurs afin de classer au mieux les variants et d'élaborer des corrélations génotype-phénotype. Les patients demeurant sans diagnostic avec cette approche, sont d'excellents candidats à des études ultérieures de séquençage d'exome/génome entier dans le cadre de la recherche.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #3172 : Application d'une stratégie de séquençage à haut débit des gènes nucléaires impliqués dans les maladies mitochondriales

#### Auteurs :

Giulia Barcia (1), Marlène Rio (1), Zahra Assouline (1), Sylvain Hanein (2), Mathieu Bernardelli (1), Cécile Fourrage (1), Christine Bole-Feysot (2), Patrick Nitschke (2), Arnold Munnich (1), Agnès Rotig (2), Jean-Paul Bonnefont (1), Julie Steffann (1)

1. Service de Génétique Médicale, Hôpital Necker - Enfants Malades, Paris, France
2. Institut Imagine, Hôpital Necker - Enfants Malades, Paris, France

**Mots clefs** : Maladies mitochondriales, séquençage à haut débit

#### Résumé :

Introduction : Les maladies mitochondriales constituent un ensemble génétiquement et cliniquement hétérogène de pathologies résultant d'un dysfonctionnement du métabolisme énergétique mitochondrial et souvent caractérisées par une atteinte multi-organe.

L'incidence globale de ces maladies est estimée à une naissance sur 4000, soit environ 200 nouveaux cas par an en France. La diversité clinique, la complexité et la rareté des maladies mitochondriales rendent leur diagnostic complexe. Au plan génétique, elles peuvent être liées à des mutations touchant l'ADN mitochondrial (ADNmt) ou les gènes de l'ADN nucléaire impliqués dans le fonctionnement de la machinerie mitochondriale. Grâce à la collaboration entre le Service de Génétique de l'Hôpital Necker et l'Institut Imagine, nous avons développé une stratégie de séquençage haut débit ciblé des gènes nucléaires impliqués dans les maladies mitochondriales.

Méthodes : Nous avons étudié 109 individus dont 10 témoins positifs avec des mutations déjà connues et 99 cas index. Le séquençage de 215 gènes impliqués dans des maladies mitochondriales dans au moins deux familles indépendantes décrites dans la littérature, a été réalisé par technique de capture (SurSelectXT Target Enrichment Reagent Kit Agilent, Illumina HiSeq2500).

Résultats : Pour tous les individus, la couverture des régions ciblées était > 99.9%. Les 16 mutations déjà connues (10 mutations ponctuelles, 5 indels et 1 large délétion) ont été correctement identifiées chez le 10 témoins.

Nous avons identifié des variants pathogènes ou probablement pathogènes dans 35/99 patients (35 %) incluant des mutations ponctuelles, des larges délétions (8 patients) et une large duplication (1 patient) touchant de façon majoritaire les gènes codant des facteurs impliqués dans le maintien de l'ADNmt (10/35), des protéines d'assemblage de la chaîne respiratoire mitochondriale (7/35) et des protéines impliquées dans la transcription de l'ADNmt et la traduction des ARNmt (7/35).

Conclusions: Avec un rendement diagnostique de 35% dans une cohorte de 99 patients étudié sur une période de 8 mois, la stratégie de séquençage ciblé s'est avérée une approche puissante pour l'étude moléculaire des gènes nucléaires impliqués dans les maladies mitochondriales. L'utilisation d'une approche de confection de bibliothèques par capture sur support solide permet un choix évolutif des gènes ciblés, sans contrainte technique notable. La stratégie « panel ciblé » réduit les coûts et le nombre de résultats incertains ou fortuits par rapport au séquençage d'exome ou de génome entier. L'interprétation des données générées par cette approche reste complexe et impose l'interaction entre cliniciens, biologistes et chercheurs afin de classer au mieux les résultats obtenus et d'élaborer des corrélations génotype-phénotype. Les patients pour lesquels cette analyse est négative, sont des bons candidats pour des études d'exome/génome entier dans le cadre de la recherche.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #3173 : CARDIOGENE : Mécanismes génétiques des maladies cardiovasculaires - Deciphering the genetic mechanisms of cardiovascular diseases

#### Auteurs :

Tania Sorg (1), Ghina Bou About (1), Marie-France Champy (2), Winfried März (3), Heiko Runz (4), Mohammed Selloum (1), François Spitz (5), Amandine Velt (1), Yann Herault (1)

1. ICS - PHENOMIN, Institut Clinique de la Souris, Illkirch, France
2. ICS - PHENOMIN, Institut Clinique de la Souris, illkirch, France
3. , Université of Heidelberg - Mannheim, Mannheim, Allemagne
4. , University - Clinic Heidelberg, Heidelberg, Allemagne
5. , EMBL, Heidelberg, Allemagne

**Mots clefs :** Cardiovascular diseases, mouse models, atherosclerosis

#### Résumé :

Cardiovascular diseases (CVD) are multifactorial and highly inheritable (60%) diseases suggesting a major role of genetic factors, and their complications are a leading cause of death. Our main objective is to gain a better understanding of the genetic mechanisms that influence the incidence of cardiovascular diseases in humans, particularly in order to better understand the factors contributing to their development and to identify markers allowing to improve the prevention and appropriate treatments of CVDs.

Our approach combines a detailed genetic analysis of a large cohort of patients (~ 3800) from Baden-Wuerttemberg and Rhineland-Palatinate (Germany) followed longitudinally for many clinical and metabolic parameters (LURIC project) to identify genetic variants associated to CVDs. To study more precisely the effects of these variants, we generated several mouse models carrying the genomic changes found in these loci (including the MAU-2, Crtc1, Rfxank and Cope genes, as well as the genetic interval [Atp6V1B2-Crtc1]) and characterized their effects on multiple molecular, metabolic and physiological parameters.

In a first attempt, we deeply characterized the ApoE knock-out (KO) model widely used in atherosclerosis studies. We were able to follow the progression of the plaques by echography, which was in correlation with the measurement of the aortic cholesterol post-mortem. We also compared the liver and fat mass RNA profiles in ApoE KO versus wildtype mice, whether fed with a chow or atherogenic diet. These analysis will allow us to identify the genes that are up- or down-regulated depending on the genotype and the diet, and to compare them to the variants identified in human clinic.

In addition, the mouse model with a duplication of the [Atp6V1B2-Crtc1] genetic interval on chromosome 8 was characterized for its physiological and metabolic traits upon challenge with a diet enriched in cholesterol. This model showed an important decrease in fat mass and in body weight, but with a higher food intake, and a significant decrease in blood lipids. In addition, no changes could be observed in aortic cholesterol levels, while atherosclerotic plaques of various sizes were induced in the aorta, the carotid, and the abdominal and renal arteries.

All these results taken together, associated to molecular analysis and combined to the genetic variants observed in the human population will allow to better understand the pathophysiological mechanisms of CVDs and to identify markers of risk factors to improve the prevention and treatment of these diseases.

**#3179 : La phosphorylation de la serine 421 de l'huntingtine module le phénotype de souris Mecp2-déficientes.**

**Auteurs :**

Yann Ehinger (1), Valerie Matagne (1), Saidi Lydia (1), Julie Bruyère (2), Frederic Saudou (2), Jean-Christophe Roux (1), Laurent Villard (1)

1. , UMR\_S910, Marseille, France

2. , institut de neuroscience Grenoble, Grenoble, France

**Mots clefs :** Mecp2, Rett, Huntingtine, insuline

**Résumé :**

Le syndrome de Rett (RTT) est une maladie postnatale progressive du développement du système nerveux central ayant une incidence de 1/10000-15000. Elle est causée par des mutations dans le gène *MECP2*, un régulateur transcriptionnel et modulateur chromatinien.

Notre équipe a montré précédemment qu'une absence de Mecp2 entraîne une altération du transport axonal dépendant de l'huntingtine (Htt) (Roux et al., 2012). Le trafficking neuronal dépend également du bon fonctionnement de certaines kinases, dont la kinase Akt qui est capable de phosphoryler l'huntingtine sur son résidu serine 421 (S421). Cette phosphorylation joue un rôle clé dans la stimulation du transport axonal (Saudou et al., 2008). De façon intéressante, la voie Akt est également dérégulée chez les souris Mecp2-déficientes (Ricciardi et al., 2011).

Nous utilisons différents outils afin de stimuler pharmacologiquement la phosphorylation de l'huntingtine sur le résidu S421 *in vivo* et *in vitro* : 1- l'activation directe de la voie Akt/Htt, via la stimulation des récepteurs insuline/IGF1; 2- le blocage indirect de la déphosphorylation de l'Htt par le FK506; 3- l'utilisation d'une approche génétique en croisant des souris Mecp2-déficientes avec des souris Htt knock-in exprimant soit un acide aspartique (mimant une phosphorylation constitutionnelle de Htt), soit une alanine (mimant une Htt non phosphorylable) en position 421. Pour évaluer *in vivo* l'effet des approches pharmacologiques et génétique, nous avons utilisé un ensemble de tests fonctionnels (grip strength, rotarod, open field) et analysé le profil respiratoire pendant le développement postnatal.

Les premiers résultats indiquent que la stimulation de la phosphorylation de l'huntingtine semble être une stratégie prometteuse pour stimuler le transport axonal altéré dans le modèle murin du syndrome de Rett et une piste thérapeutique intéressante.

### #3181 : Apport de l'exome dans le diagnostic des maladies évocatrices d'une cytopathie mitochondriale

#### Auteurs :

Claude JARDEL (1), Fanny MOCHEL (2), Sandrine FILAUT (1), Isabelle LEMIERE (1), Victoria POILLERAT (1), Stéphanie LE GRAS (3), Bernard JOST (3), Anne LOMBES (4), Christel DEPIENNE (2)

1. UF Cardio et Myogénétique-Biochimie Métabolique, Hôpital Pitié Salpêtrière, Paris, France
2. département de génétique, Hôpital Pitié Salpêtrière, Paris, France
3. plate forme biopuces et séquençage, IGBMC, Illkirch, France
4. Inserm 1016, CNRS UMR 8104, Institut Cochin, Paris, France

**Mots clefs :** Cytopathie mitochondriale, séquençage haut débit, stratégie diagnostique

#### Résumé :

Les maladies mitochondriales, dues à un déficit de la chaîne des oxydations phosphorylantes, constituent un large groupe de maladies très diverses pouvant toucher tous les organes et concerner l'enfant comme l'adulte. Leur diagnostic reste un défi en pratique médicale quotidienne en raison de la multitude de gènes impliqués, portés par le génome nucléaire ou mitochondrial. A l'heure du séquençage haut débit, se pose la question de la meilleure stratégie diagnostique quand l'implication des gènes les plus fréquents a été écartée. Récemment, Le réseau diagnostique français des maladies mitochondriales a proposé le séquençage en 1ère intention de l'ADNmt total et des 10 gènes les plus fréquemment impliqués (*POLG*, *POLG2*, *C10orf2*, *TK2*, *RRM2B*, *Surf1*, *DGUOK*, *MPV17*, *SUCLA2*, *SLC25A4*). La question se pose de la stratégie à adopter quand ces recherches sont négatives : soit un panel plus ou moins large de gènes pathogènes identifiés (environ 250 à ce jour) ou exome ?

Dans le cadre des projets de la **Fondation Maladies Rares**, nous avons séquençé l'exome de 25 patients sélectionnés sur leur phénotype clinique évocateur de cytopathie mitochondriale, associé à des anomalies de l'imagerie cérébrale, de la morphologie musculaire et/ou biochimiques (hyperlactatémie, déficit de la chaîne des OXPHOS). Les patients (10 enfants et 15 adultes) étaient issus de 19 familles : 3 paires de germains issus de mariages consanguins, 3 paires de germains issus de parents non apparentés et 13 patients sporadiques issus de familles consanguines. Au total, 19 sujets présentaient une consanguinité certaine ou probable. La responsabilité de l'ADNmt avait été préalablement écartée, évoquant une transmission récessive. L'analyse d'exome a été réalisée sur la plateforme de l'IGBMC (ANR-10-INBS-0009) et a utilisé une capture SureselectXT2 (Agilent technologies) et un séquençage sur HiSeq2500 (Illumina).

L'analyse des résultats a permis d'identifier des mutations pathogènes dans 8 familles (10 sujets), soit 42% des cas. Trois des 8 gènes codaient pour une protéine mitochondriale tandis que 5 n'avaient pas de lien direct avec la mitochondrie. Ainsi, seulement 16% des cas étaient d'authentiques maladies mitochondriales. Six de ces 8 gènes avaient déjà été associés à une pathologie humaine et 2 représentaient des nouveaux gènes qui ont été validés par la suite. Notre étude souligne 1) la difficulté d'affirmer l'origine mitochondriale de présentations cliniques pourtant fortement évocatrices 2) le meilleur rendement diagnostique de l'exome versus le panel large de gènes connus puisque dans notre cohorte un seul patient (5%) aurait été diagnostiqué grâce au panel élargi.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

**#3187 : Myocapture: 1000 exomes pour le diagnostic des myopathies et l'identification de nouveaux gènes**

### Auteurs :

Johann Böhm (1), Raphael Schneider (1), Juliette Nectoux (2), Isabelle Nelson (3), Edoardo Malfatti (3), Marc Bartoli (4), Martin Krahn (4), Valérie Biancalana (5), Valérie Allamand (3), François Artiguenave (6), Anne Boland (6), Julie Thompson (7), Isabelle Richard (8), Norma Romero (3), Safaa Saker (8), France Leturcq (2), Gisèle Bonne (3), Jocelyn Laporte (1)

1. , IGBMC, Strasbourg, France
2. , Hôpital Cochin, Paris, France
3. , Institut de Myologie, Paris, France
4. , Hôpital d'Enfants de la Timone, Marseille, France
5. Laboratoire de diagnostic génétique, Nouvel Hôpital Civil, Strasbourg, France
6. , Institut de Génomique, Evry, France
7. , ICube, Strasbourg, France
8. , Généthron, Evry, France

**Mots clefs** : myopathies, séquençage d'exome, diagnostic, nouveaux gènes

### Résumé :

Les myopathies forment un groupe hétérogène de maladies génétiques comprenant plus de 200 étiologies avec une prévalence totale de plus de 1/ 5000. Elles sont généralement associées à une faiblesse musculaire et une atrophie, amènent à l'invalidité, et représentent une charge importante pour les patients, leurs familles, et le système de santé public. Les causes génétiques sont inconnues pour près de la moitié des patients myopathes. En conséquence, les patients dépourvus de diagnostic moléculaire n'ont pas accès au diagnostic prénatal ou au développement de thérapies.

Le consortium de Myocapture, impliquant 7 équipes de recherche françaises, laboratoires de diagnostic, cliniciens de FILNEMUS, la banque nationale d'ADN (Généthron), et le centre national de séquençage (CNG), a séquencé et analysé 1000 exomes de patients et familles myopathes. Nos objectifs étaient l'identification de nouveaux gènes de myopathies et leur transfert en diagnostic de routine, le développement d'un pipeline bio-informatique efficace de traitement, filtrage, et classement des variations, ainsi que la création d'une base de données permettant l'analyse intégrée des 1000 exomes.

Basé sur des données histologiques et ultra-structurales, nous avons assemblé des cohortes homogènes pour les myopathies de Bethlem, de ceinture, centronucléaires, à cap, à cores centraux, à bâtonnets, à spirales cylindriques, à corps d'inclusions, et à agrégats tubulaires. En moyenne, les exomes contenaient 21 000 variations exoniques, dont 55% synonymes, 43% faux-sens, et 1-2% perte de fonction. 97.2% de toutes les variations portent un numéro rs, et 95.3% sont listées dans ExAC. Nous avons identifié et partiellement validé génétiquement et fonctionnellement le gène causatif, ou déterminé un candidat probable dans 1/3 des patients. Nous avons découvert des mutations dans des nouveaux gènes et dans des gènes connus. Les gènes connus comprennent des très grands gènes non exclus préalablement comme TTN, NEB, ou RYR1, et des gènes associés à d'autres myopathies. Environ 2/3 des familles restent irrésolues après une première analyse, et nous avons observé une corrélation entre le taux de réussite et le nombre d'exomes analysés par famille. Pour les singletons, nous avons trouvé le gène ou un bon candidat dans 28% des cas, pour des trios dans 44% des cas, et pour des grandes familles avec plus de 4 exomes dans 75% des cas.

Nos résultats indiquent qu'un nombre important des cas irrésolus porte des mutations dans des grands gènes, et que l'hétérogénéité génétique et phénotypique des myopathies est sous-estimé. Nos résultats démontrent que le séquençage de l'exome révèle un grand nombre de variations de valeur incertaine, et que la comparaison avec d'autres exomes de la famille augmente la probabilité d'un diagnostic moléculaire de certitude. La base de données Myocapture améliorera la classification des myopathies, et permettra une vue intégrée des voies régulant la fonction musculaire.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #3194 : Identification de délétions partielles de *SLC20A2* comme cause de calcifications cérébrales primaires par séquençage d'exomes.

#### Auteurs :

Stéphanie David (1), Joana Braga de Moraes Marques Ferreira (2), Olivier Quenez (3), Anne Rovelet-Lecrux (3), Anne-Claire Richard (3), Anne Boland (4), Jean-François Deleuze (4), Thierry Frebourg (1), Didier Hannequin (3), Dominique Campion (5), Gaël Nicolas (1)

1. Inserm U1079 et Service de Génétique, Centre Normand de Génomique Médicale et Médecine Personnalisée, Inserm, Université de Rouen et CHU de Rouen, Rouen, France
2. Keizo Asami Laboratory et Inserm U1079, Centre Normand de Génomique Médicale et Médecine Personnalisée, Université de Pernambuco et Inserm, Université de Rouen, Recife, Brésil - Rouen, France
3. Inserm U1079 et CNR-MAJ, Centre Normand de Génomique Médicale et Médecine Personnalisée, Inserm, Université de Rouen et CHU de Rouen, Rouen, France
4. Centre National de Génotypage, CEA, Evry, France
5. Inserm U1079, CNR-MAJ, Centre Normand de Génomique Médicale et Médecine Personnalisée, et Département universitaire de psychiatrie, Inserm, Université de Rouen, CHU de Rouen et Centre Hospitalier du Rouvray, Rouen, France

**Mots clefs :** exome, CNV, CANOES, calcifications cérébrales, Fahr, *SLC20A2*

#### Résumé :

Les calcifications cérébrales primaires (CCP) sont caractérisées par la présence de calcifications touchant au minimum les noyaux gris centraux se transmettant sur un mode autosomique dominant. Les signes cliniques inconstamment associés sont majoritairement de type psychiatrique, cognitif et des mouvements anormaux. Quatre gènes causaux ont été identifiés depuis 2012 : *SLC20A2*, *PDGFB*, *PDGFRB* et *XPR1*. Les mutations perte de fonction du gène *SLC20A2* sont majoritaires. Une seule délétion du gène *SLC20A2* a été décrite à ce jour, emportant ce gène entièrement et 6 autres gènes. Près de la moitié des cas français ne présente pas d'altération génétique considérée comme causale.

Nous avons séquéncé les exomes de 24 patients français non apparentés avec CCP sans mutation ponctuelle identifiée dans *SLC20A2*, *PDGFB*, *PDGFRB* et *XPR1*. Nous rapportons les résultats de la recherche de CNVs par l'outil CANOES. Cet outil permet de détecter les CNVs par comparaison multiple des profondeurs de couvertures. Après analyse pan-exomique, 3 CNVs rares étaient identifiés et confirmés par QMPSF. Parmi eux, une délétion de l'exon 2 (premier exon codant) de *SLC20A2* était présente chez deux patients non apparentés, et ségrégeait avec les CCP dans la première famille chez deux apparentés atteints dont l'ADN était disponible. Afin d'évaluer la sensibilité de détection des CNVs par l'outil CANOES dans ce gène, nous avons mis au point une QMPSF comprenant un amplicon dans chaque exon de *SLC20A2*. Nous avons ainsi détecté deux nouvelles délétions partielles chez deux patients : une délétion de l'exon 4 et une délétion emportant les exons 4 et 5, cette dernière était également retrouvée chez la sœur atteinte du cas index. L'utilisation de paramètres fins de génotypage par l'outil CANOES (recherche d'évènements spécifiques, limitations moins stringentes) permettait finalement de détecter ces deux dernières délétions, qui n'apparaissaient pas en analyse pan-exomique, mais au prix de la détection d'une duplication de l'exon 4 chez un patient, faussement positive.

Cette étude met en lumière la fréquence importante des délétions partielles de *SLC20A2* chez les patients sans mutation ponctuelle identifiée en séquençage Sanger et renforce sa position de premier gène causal en fréquence. La détection des CNVs par l'outil CANOES semble spécifique (voir aussi résultats de notre équipe sur une série de patients avec maladie d'Alzheimer jeune, abstract n°2665) mais la recherche de CNVs impliquant des gènes candidats ou de niveau diagnostique devrait être optimisée en définissant des cibles précises. Néanmoins, la recherche de CNVs de manière pan-exomique par l'outil CANOES permet de détecter des CNVs de petite taille qui auraient été manqués par les analyses pangénomiques classiques (CGH array ou SNP array).

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #3197 : Le gène *ERLIN2* est impliqué dans une forme autosomique dominante de paraplégie spastique héréditaire (SPG37)

#### Auteurs :

Typhaine Esteves (1), Agnès Rastetter (1), Alexandra Durr (2), Maxime Boutry (1), Christel Depienne (1), Alexis Brice (2), Frédéric Darios (1), Giovanni Stevanin (1)

1. Inserm U1127, CNRS UMR7225, UPMC UMRS1127, EPHE, ICM, Institut du Cerveau et de la Moelle épinière, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France, Paris, France
2. Inserm U1127, CNRS UMR7225, UPMC UMRS1127, ICM, Institut du Cerveau et de la Moelle épinière, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France, Paris, France

**Mots clefs :** paraplégie spastique héréditaire, réticulum endoplasmique, calcium

#### Résumé :

Les paraplégies spastiques héréditaires (PSH) sont un groupe de maladies neurologiques très hétérogène sur le plan clinique comme génétique. A l'heure actuelle, environ 70 gènes ont été impliqués dans ces pathologies, transmis selon un mode autosomique dominant (AD), récessif (AR) et lié à l'X.

Nous avons étudié une grande famille française atteinte de PSH avec une transmission AD. Après analyse de liaison génétique, une région chromosomique de 43,5 cM était partagée par tous les membres atteints de la famille, et après séquençage de l'exome, une mutation faux-sens a été mise en évidence à l'état hétérozygote dans le gène *ERLIN2* (c.194 C > T – p.T65I). Par la suite, une deuxième famille a permis d'identifier une autre mutation faux-sens, également à l'état hétérozygote (c.502G > A – p.V168M). Ce gène avait déjà été identifié comme causal dans les PSH (SPG18), mais selon un mode de transmission AR.

*ERLIN2* (ER Lipid raft protein 2) code pour la protéine SPFH2 dont la fonction la plus connue est celle impliquée dans l'ERAD (ER Associated protein Degradation). En particulier, associée en oligomères avec SPFH1, SPFH2 interagit avec les récepteurs à l'inositol 1,4,5 phosphate (IP3), des canaux calciques du réticulum endoplasmique (RE), et recrute les acteurs nécessaires à leur ubiquitination, menant ainsi à leur dégradation par le protéasome. Des travaux ont montré que la diminution de l'expression de SPFH2 entraînait une diminution de la dégradation de l'IP3R.

Grâce à l'étude des fibroblastes de patients et à la surexpression *in vitro* de la protéine sauvage et mutée, nous avons montré au laboratoire que ces deux mutations n'affectent pas la quantité de SPFH2 et n'entraînent pas relocalisation subcellulaire de la protéine. En revanche, nous avons observé des différences de flux calciques entre le RE et le cytosol potentiellement lié à l'activité des récepteurs à l'IP3.

Des études sont en cours afin de déterminer le mécanisme physiopathologique impliqué dans cette forme SPG37 des paraplégies spastiques héréditaires.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #3206 : La mise au point d'un outil de tri rapide des variations du génome mitochondrial détectées par NGS en routine diagnostique

#### Auteurs :

Nada Houcinat (1), Armelle Courrège (2), Marie-Laure Negrier-Leibreich (2)

1. génétique médicale, Pellegrin , Bordeaux, France
2. anatomopathologie, Pellegrin , Bordeaux, France

**Mots clefs :** NGS, cytopathies mitochondriales, ADN mitochondrial, tri de variant

#### Résumé :

Les cytopathies mitochondriales sont un groupe de maladies génétiques hétérogènes dont l'origine commune est un déficit de la chaîne respiratoire mitochondriale, principale source d'énergie cellulaire. Elle est constituée de complexes multiprotéiques dont l'origine génétique est double : mitochondriale et nucléaire. L'étude moléculaire du génome mitochondrial (ADNmt) se limitait jusqu'à très récemment en routine diagnostique, à la recherche de grands réarrangements et de quelques mutations ponctuelles communes. Nous rapportons ici l'expérience du CHU de Bordeaux dans la mise en place du séquençage de nouvelle génération, par le système PGM (Life Technologie) dans le cadre de l'étude de l'ADNmt chez les patients adressés pour suspicion de cytopathie mitochondriale. Cette nouvelle technique s'est bien intégrée dans la routine de travail du plateau technique de biologie moléculaire. Le traitement des données a été réalisé grâce au logiciel fourni Torrent Suite®, générant une liste de variants sous-forme de fichiers Excel et VCF. La technique a permis de détecter les mutations ponctuelles peu communes avec un rendement de 18% dans une série de 22 patients, et de délimiter rapidement les points de cassures des grands réarrangements. La part la plus compliquée de ce travail a été de trier la quantité importante de données générées avec parfois plus de 50 variations par patient. Ce tri se fait classiquement à partir des bases de données mitochondriales « mtDB » et « mitomap », consultables via internet mais au prix de manipulations longues. En effet, il existe un réel manque d'outils dédiés qui puissent faire le lien entre ces bases et les fichiers de sortie des variants de séquençage de l'ADNmt, pour un tri plus rapide et plus automatisé. Nous avons donc décidé de mettre au point grâce à différentes formules, un outil de tri « maison » via Excel. Nous avons pour cela importé dans un classeur Excel, la base de donnée mtDB et toutes les mutations mitochondriales décrites (telles que répertoriées dans mitomap), constituant ainsi une base de données locale. Nous avons ensuite créé, toujours via Excel, une interface pour interroger cette base à partir du fichier de sortie Excel des variants de séquençage (du logiciel Torrent Suite). Ceci permet de générer une feuille de résultat automatique en quelques secondes, qui classe les variants de chaque patient en : mutations (confirmées ou rapportées), polymorphismes ou variants inconnus en fonction d'un code couleur prédéfini. Grâce ce nouvel outil simple et adapté à une utilisation en routine, la détection des mutations et l'élimination des polymorphismes connus de l'ADNmt peut se faire en moins d'une minute par patient, raccourcissant considérablement le temps d'analyse.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

**#3208 : Séquençage par technologie haut débit d'un panel de 103 gènes et régions régulatrices impliqués dans le développement des membres : application en diagnostic chez des patients atteints de malformations des membres**

### Auteurs :

Anne-Sophie JOURDAIN (1), marion DELBARRE (2), florence PETIT (2), clémence VANLERBERGHE (2), morgane STICHELBOU (2), jamal GHOUIMID (2), Frédéric FRENOIS (2), Sylvie MANOUVRIER (2), Fabienne ESCANDE (1)

1. RADEME EA 7463, Clinique de Génétique Guy Fontaine, Oncologie et Génétique moléculaire CBP, CHRU Lille, Lille, France
2. RADEME EA 7463, Clinique de Génétique Guy Fontaine, CHRU Lille, Lille, France

**Mots clefs :** NGS, membres, panel, haut-débit

### Résumé :

Les malformations congénitales des membres (MCM) sont fréquentes (prévalence estimée entre 1.3 et 1.9 % naissances). Elles peuvent être isolées ou rentrer dans le cadre de syndromes malformatifs, dont environ 1400 sont décrits dans la littérature. Leur diagnostic précis clinique et moléculaire est important afin de permettre l'établissement d'un pronostic et d'aider à la prise en charge du patient, mais aussi pour le conseil génétique. Or, l'hétérogénéité des signes cliniques, l'importante variabilité d'expression intra et extrafamiliale, les défauts de pénétrance, ou encore les phénotypes inhabituels, atypiques, ou moins bien connus (observations fœtales par exemple), rendent parfois difficiles ce diagnostic et le choix des analyses moléculaires à réaliser. Parmi les 1090 patients « index » atteints de MCM isolées ou syndromiques référés à notre équipe clinico-biologique, nous avons pu identifier la cause moléculaire, par analyse ciblée, dans 411 cas (38%). L'objectif de notre travail était d'évaluer la pertinence du recours à la technologie de séquençage haut débit d'un panel de gènes impliqués dans les MCM (moins de 150 sont connus pour être associés à des MCM isolées ou syndromiques). Au sein de notre cohorte de patients chez lesquels le diagnostic moléculaire de première intention (analyse des gènes décrits en lien avec le phénotype) était négatif, nous avons sélectionné 200 patients pour lesquels les arguments en faveur du caractère génétique de leur MCM étaient importants (notamment caractère familiale et/ou bilatéral des anomalies). Les patients ont été séquencés sur MiSeq-Illumina pour un panel Haloplex-Agilent à façon de 103 gènes ou régions décrits dans les MCM. Au terme de notre analyse, 36 variants d'intérêt ont été identifiés chez 33 patients. Dans 11 cas, le caractère délétère du variant a pu être établi (variants de *BMPR1B*, *FGFR1*, *FGFR2*, *GNAS*, *HDAC4*, *HOXD13*, *IRF6*, *TP63* et *TWIST1*). Pour 23 cas, des études complémentaires sont nécessaires, néanmoins 12 candidats sont fortement suspects (variants de *BMPR1B*, *DLX5*, *FGF10*, *FGF16*, *FGFR1*, *NIPBL*, *RECQL4* et *WNT10B*). Certains gènes comme *BMPR1B*, *FGFR1*, *DLX5* et *WNT10B* sont retrouvés mutés de façon récurrente chez des patients porteurs d'anomalies des mains, confirmant ainsi l'intérêt de leur étude pour le diagnostic différentiel des anomalies des extrémités (brachydactylies, syndactylies,...). Certains de ces variants permettent d'élargir le spectre phénotypique des anomalies des gènes étudiés (*FGFR1*, *HOXD13*, *HDAC4*, *FGF10*). Ainsi, l'identification d'un variant d'intérêt dans 18% des cas, amène à considérer le séquençage d'un panel ciblé comme une option très intéressante dans le cadre des MCM. Son utilisation en première intention pourrait être notamment envisagée pour des pathologies dont la complexité des tableaux cliniques rend difficile l'orientation des analyses moléculaires.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

**#3211 : Diagnostic moléculaire d'une grande cohorte de 240 familles atteintes de rétinite pigmentaire dominante autosomique par séquençage Sanger et séquençage ciblé haut-débit**

### Auteurs :

Gaël Manes (1), Tremeur Guillaumie (2), Isabelle Audo (3), Christina Zeitz (4), Aurore Devos (5), Xavier Zanlonghi (6), Sabine Defoort-Dhellemmes (7), Bernard Puech (7), Saddek Mohand Said (4), José Alain Sahel (8), Sylvie Odent (9), Dollfus Dollfus (10), Josseline Kaplan (11), Jean-Louis Dufier (12), Guylène Le Meur (13), Michel Weber (14), Laurence Faivre (15), Francine Behar Cohen (16), Audrey Sénéchal (17), Corinne Baudoin (17), Béatrice Bocquet (17), Isabelle Meunier (2), Claire-Marie Dhaenens (5), Christian Hamel (2)

1. INSERM U1051, Institut des Neurosciences de Montpellier, Montpellier, France
2. INSERM, CHRU Montpellier, Montpellier, France
3. INSERM, U968, Institut de la Vision, , Paris, France
4. INSERM, U968, Institut de la Vision, Paris, France
5. Laboratoire de biochimie et biologie moléculaire, CHRU Lille, Lille, France
6. , Clinique Sourde, Nantes, France
7. Laboratoire Neurosciences Fonctionnelles et Pathologies, Hôpital Roger Salengro, Lille, France
8. INSERM, U968, Institut de la Vision,, Paris, France
9. , Centre Hospitalier Universitaire de Rennes, Rennes, France
10. Centre de référence pour les affections rares en génétique ophtalmologique (CARGO), Hôpitaux Universitaires de Strasbourg , Strasbourg, France
11. Department of Genetics, INSERM U781, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France
12. , Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France
13. Service d'Ophtalmologie,, CHU-Hotel Dieu, Nantes, France
14. Service d'Ophtalmologie, CHU-Hotel Dieu, Nantes, France
15. Centre de génétique, Hôpital d'Enfants, Dijon, France
16. Paris Descartes University, AP-HP Hôtel-Dieu Hospital, Paris, France
17. INSERM, Institut des Neurosciences de Montpellier, Montpellier, France

**Mots clefs :** Rétinite pigmentaire, séquençage ciblé haut-débit, prévalence génétique, cohorte nationale

### Résumé :

#### BUT :

Les rétinites pigmentaires (RP) sont des dystrophies héréditaires de la rétine caractérisées par la perte progressive des photorécepteurs prédominante en périphérie rétinienne. La prévalence de cette affection est d'environ 1 individu sur 4000. Les RP sont génétiquement hétérogènes avec à ce jour 71 gènes connus responsables de la maladie pour les 3 modes de transmission; autosomique dominant (adRP, 24 gènes), autosomique récessif (arRP, 44 gènes) ou liée à l'X (xlRP, 3 gènes). La forme dominante autosomique (adRP) représente environ 20% des RP. Le but de cette étude est d'établir la prévalence précise dans la population Française des gènes connus à partir d'une cohorte de 240 familles atteintes d'adRP.

#### MÉTHODES :

Plus de 300 familles atteintes d'adRP ont été recrutées par 10 centres de référence au niveau national et 240 familles ont été retenues pour l'analyse après exclusion des modes de transmission ou des phénotypes incertains. Une première analyse par séquençage Sanger des 10 gènes d'adRP les plus fréquemment mutés (*RHO* et *PRPH2* entièrement, *PRPF31*, *RP1*, *PRPF8*, *IMPDH1*, *NRL*, *PRPF3*, *NR2E3* et *SNRNP200* pour certains exons) chez les patients index de chaque famille a été effectuée. Les patients sans mutation ont alors été analysés par séquençage ciblé haut-débit d'un panel de 123 gènes contenant l'ensemble des 71 gènes de RP (adRP, arRP et xlRP) ainsi que de plusieurs autres gènes de dystrophies rétinienne (syndrome de Usher, dystrophie des cônes, héméralopie essentielle, etc).

#### RÉSULTATS :

La mutation causale responsable de la maladie a été identifiée pour 152 familles (62.5%) et la moitié des mutations identifiées étaient nouvelles. Quatre gènes majeurs, *RHO* (17.5%), *PRPH2* (10.5%), *RP1* (7.1%) et *PRPF31* (6.3%), représentent 41.5% des mutations identifiées. L'étude montre également une prévalence élevée inattendue de certains gènes: *NR2E3* (4.6%), *SNRNP200* (3.3%) et *TOPORS* (2.1%). Aucune mutation n'a été identifiée dans huit gènes d'adRP (*CA4*, *FSCN2*, *GUCA1B*, *NRL*, *RDH12*, *ROM1*, *RP9/PAP1* et *SEMA4A*), ni dans des gènes d'arRP. L'analyse phénotypique a montré une atteinte modérée de la RP pour de nombreux patients avec notamment une pénétrance incomplète pour trois gènes (*PRPF31*, *SNRNP200* et *RP1*), ainsi qu'un

phénotype très variable pour le gène *PRPH2* qui peut donner des formes RP péricentrales, RP diffuses et des dystrophies maculaires pseudovitelliformes.

CONCLUSION :

Environ 2/3 des familles (62.5%) sont porteuses d'une mutation dans un gène adRP connu, ce qui implique que plus du 1/3 des familles sont soit porteuses d'une mutation intronique ou d'un grand réarrangement chromosomique non détecté par les techniques utilisées dans cette étude, soit qu'elles sont porteuses d'une mutation dans un gène d'adRP inconnu. Dans le but d'identifier ces nouveaux gènes, le séquençage de l'exome complet de 21 grandes familles négatives dans cette étude est en cours dans le laboratoire.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #3219 : Diagnostic des surdités génétiques à Montpellier : mise en place d'une analyse sur un panel de gènes

#### Auteurs :

Mélody MOCLYN (1), Valérie FAUGERE (1), Gema GARCIA GARCIA (2), David BAUX (1), Michel KOENIG (1), Mireille CLAUSTRES (2), Anne Françoise ROUX (1)

1. génétique moléculaire, CHRU, MONTPELLIER, France
2. génétique des maladies rares, Université, MONTPELLIER, France

**Mots clefs :** NGS, surdité neurosensorielle

#### Résumé :

La surdité est le déficit neurosensoriel le plus fréquent chez l'homme avec une prévalence d'1 enfant sur 500. Plus de 50% des surdités pré linguales sont d'origine génétique, la grande majorité non syndromiques.

Environ 30 % des patients analysés au laboratoire sont mutés au locus DFNB1 impliqué dans les surdités de perception isolées pré-linguales. Ce locus est analysé en première intention.

Afin de répondre à la demande de diagnostic des cas non résolus et envisager une analyse exhaustive des gènes impliqués, nous avons développé le séquençage d'un panel de gènes identifiés dans les surdités de transmission autosomique récessive, dominante ou lié à l'X.

Les bibliothèques sont préparées à l'aide des technologies Illumina Nextera Rapid Capture Custom Enrichment Kit ou Nimblegen seqCap EZ Choice et séquencées sur une plateforme Miseq Illumina après capture des sondes spécifiques des gènes d'intérêt.

Nous analysons les 71 gènes du panel chez les patients atteints de surdité neurosensorielle isolée non DFNB1. Un pipeline couplé à la base de données interne permet de prioriser les variants d'intérêt (potentiellement pathogènes) qui sont alors validés par séquençage Sanger chez le cas index et les apparentés si possible.

Depuis la mise en place du NGS au laboratoire, environ 80 cas index DFN ont été analysés. Un variant causal a été identifiée dans chacun des gènes DFNX chez 3 familles. Pour les autres gènes, le génotype pathogène a été élucidé dans 62% des cas pour les familles DFNA et 23% pour les familles DFNB avec une récurrence pour les gènes de la famille des Myosine. Même si tous les cas n'ont pas pu être résolus, la mise en place du diagnostic des surdités neurosensorielles sur un panel de gènes a permis de génotyper un nombre non négligeable de familles DFN, ainsi que d'affiner le classement des nombreux variants identifiés sur l'ensemble des gènes.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #3225 : Relation génotype-phénotype chez les patients porteurs d'une mutation dans le gène *FBN1* : étude des probands et des apparentés.

#### Auteurs :

Maud LANGEAIS (1), Myrtille SPENTCHIAN (2), Laurent GOUYA (2), Olivier MILLERON (2), Sylvie ODENT (3), Laurence FAIVRE (4), Sophie DUPUIS-GIROD (5), Sophie NAUDION (6), Thomas EDOUARD (7), Laurence BAL (8), Nadine HANNA (9), Pauline ARNAUD (9), Mélodie AUBART (2), Catherine BOILEAU (9), Guillaume JONDEAU (2)

1. CNMR Syndrome de Marfan et apparentés, CHU BICHAT, Paris, France
2. CNMR Syndrome de Marfan et apparentés, CHU BICHAT, PARIS, France
3. Service de Génétique Clinique, CHU RENNES, RENNES, France
4. Service de Génétique, CHU DIJON, DIJON, France
5. Service de Génétique, CHU LYON, LYON, France
6. Service de Génétique Médicale, CHU BORDEAUX, BORDEAUX, France
7. Service de Pédiatrie, CHU TOULOUSE, TOULOUSE, France
8. Service de Cardiologie, CHU LA TIMONE, MARSEILLE, France
9. Département de Génétique, CHU BICHAT, PARIS, France

**Mots clefs :** Relation génotype-phénotype

#### Résumé :

Les mutations dans le gène *FBN1* sont associées au syndrome de Marfan et à tout un spectre de maladies apparentées. Les études génotypes-phénotypes précédentes n'ont pas permis d'identifier des corrélations fortes en dehors d'une association entre des formes néonatales sévères et des mutations touchant les exons 24-32. Toutefois ces études précédentes, n'ont été réalisées que chez des probands, dont les signes sont souvent plus marqués. Nous avons utilisé les données cliniques et génétique de notre registre pour étudier les relations génotype-phénotype obtenues lorsque probands et apparentés étaient inclus dans l'analyse.

Nous avons utilisé les données cliniques et génétiques de 1323 patients porteurs d'une mutation dans le gène *FBN1*. Nous avons ensuite comparé les données cliniques en fonction du type de mutation et sa localisation.

Les patients porteurs d'une mutation entraînant l'apparition d'un codon stop prématuré présentent un phénotype squelettique et cardiovasculaire plus sévère (30% de chirurgie aortique vs 21%, 11% de dissection aortique vs 7%, 77% de pectus vs 61%, 55% de scoliose vs 46%) et moins d'atteinte ophtalmologique (22% d'ectopie franche vs 38%, 15% d'ablation du cristallin vs 35%) que les patients porteurs d'une mutation en phase.

Les patients porteurs d'une mutation missense touchant une cystéine ou un acide aminé consensus ont plus d'atteintes ophtalmologiques (77% d'ectopie franche vs 54%) et ont une ablation du cristallin à un âge plus jeune (14 ans vs 22 ans).

Les patients porteurs d'une mutation faux sens entraînant la substitution d'une cystéine présentent plus d'atteinte squelettique (58% de pectus vs 30%, 59% d'arachnodactylie vs 34%) , cutanée (75% vs 50%), et cardiovasculaire (28% de chirurgie aortique vs 7%) que les patients porteurs d'une mutation faux sens conduisant à l'apparition d'une cystéine supplémentaire.

Les patients porteurs d'une mutation touchant la région néonatale (exons 24-32), sont plus souvent opérés de l'aorte et de façon précoce (31% vs 24% et 28ans vs 34ans) et sont également opérés plus fréquemment d'une ectopie du cristallin (40% vs 25%).

Les patients porteurs d'une mutation touchant les exons 44 à 49 sont plus grands (181cm vs 174cm), présentent plus souvent un pectus (81% vs 66%) et une scoliose (72% vs 48%) et sont opérés plus jeunes du cristallin (12ans vs 17ans).

Enfin les patients porteurs d'une mutation touchant le peptide signal (n=22) ont une atteinte squelettique, cutanée, pulmonaire et neurologique plus importante. Aucune ablation de cristallin ni de dissection n'a été observée dans ce groupe.

En conclusion, les codons stop prématurés s'accompagnent non seulement d'un phénotype squelettique plus sévère mais aussi d'un phénotype cardiovasculaire plus sévère. Les mutations en phase intéressant une cystéine s'accompagnent de plus de signes ophtalmologiques. D'autre part les phénotypes sont plus sévères dans les différents systèmes lorsqu'il s'agit d'une substitution de cystéine.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

**#3228 : Analyse évolutive d'une cohorte de patients atteints de myopathie héréditaire à inclusions: De l'approche « gène par gène » à l'approche « exome ».**

### Auteurs :

Mathieu Cerino (1), Svetlana Gorokhova (2), Anthony Béhin (3), Jon Andoni Urtizberea (4), Eric Salvo (1), Rafaëlle Bernard (1), Jean Pouget (5), Shahram Attarian (5), Emmanuelle Salort-Campana (5), Nicolas Lévy (1), Marc Bartoli (2), Martin Krahn (1)

1. Département de Génétique Médicale, AP-HM, Hôpital de la Timone Enfants, Marseille, France
2. INSERM, GMGF, UMR\_S 910, Aix-Marseille Université, Marseille, France
3. Institut de Myologie, AP-HP, Groupe Hospitalier La Pitié Salpêtrière, Paris, France
4. Myologie, AP-HP, Hôpital Marin, Hendaye, France
5. Neurologie, maladies neuro-musculaires, AP-HM, Hôpital de la Timone, Marseille, France

**Mots clefs :** GNE ; Séquençage à haut débit ; Myopathie héréditaire à inclusions ; Exome

### Résumé :

Les myopathies héréditaires à inclusions (hIBM) représentent un groupe hétérogène de pathologies musculaires tant au niveau clinique que génétique. Cette hétérogénéité complique le diagnostic génétique actuellement réalisé avec les techniques de séquençage "classique" par la méthode Sanger.

Le Département de Génétique Médicale à Marseille effectue, en tant que laboratoire de référence national, le diagnostic de routine d'une forme récessive d'hIBM, les myopathies héréditaires à inclusions associées au gène *GNE* (IBM2). Ainsi, au cours des 10 dernières années, 179 patients ont été inclus pour une analyse du gène *GNE*.

Cette cohorte de patients a servi de base pour ce projet dont l'objectif était d'apprécier les limites de l'approche "gène par gène" pour l'exploration moléculaire de ces pathologies hétérogènes, tout en évaluant la possibilité d'un transfert vers les technologies de séquençage à haut débit pour le diagnostic moléculaire de ces pathologies d'origine génétique.

Parmi les patients analysés, un **premier groupe** constitué des **36 cas index diagnostiqués par séquençage "classique"** pour une myopathie héréditaire à inclusions associée au gène *GNE* a permis de caractériser sur le plan moléculaire la première grande cohorte française de patients atteints d'IBM2 (**cohorte "GNE positive"**). Les données issues de cette cohorte représentent au total 10% des variants délétères du gène *GNE* associés à ce jour aux IBM2. Cette première partie du projet nous a également permis d'évaluer l'effet potentiellement délétère sur l'épissage de l'ensemble de ces variants, nous conduisant à reconsidérer par des tests *in vitro* la pathogénicité d'un variant du gène *GNE* initialement considéré comme bénin, mais dont l'effet délétère sur l'épissage a été finalement démontré par ces tests fonctionnels.

Le **second groupe** a permis de constituer la **cohorte "IBM"** en sélectionnant **20 cas index** parmi les patients non diagnostiqués après l'analyse par séquençage "classique" du gène *GNE*. Cette cohorte constituée de patients atteints d'hIBM a ensuite été explorée par une **approche de séquençage à haut débit (exome)**, nous permettant ainsi d'une part d'éprouver notre pipeline d'analyse et d'autre part de déterminer le diagnostic moléculaire chez 45% des patients.

Ces travaux ouvrent la voie au diagnostic des hIBM, mais également d'autres pathologies musculaires d'origine génétique, par les techniques de séquençage à haut débit.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

**#3230 : Délétion partielle du gène SHANK3 chez une patiente présentant un tableau de dementia infantilis de Heller, un trouble neurodéveloppemental rare appartenant aux troubles envahissants du développement**

### Auteurs :

Anne Philippe (1), Yann Craus (2), Marlène Rio (1), Nadia Bahi-Buisson (3), Nathalie Boddaert (4), Jean-Paul Bonnefont (5), Valérie Malan (6), Laurence Colleaux (7), Laurence Robel (2)

1. Département de Génétique, UMR1163, Université Paris Descartes-Sorbonne Paris Cité, Institut Imagine, Hôpital Necker Enfants Malades (AP-HP), Paris, France
2. Département de psychiatrie de l'enfant et l'adolescent, Hôpital Necker Enfants Malades (AP-HP), Paris, France
3. Neurologie pédiatrique, UMR1163, Université Paris Descartes-Sorbonne Paris Cité, Institut Imagine, Hôpital Necker Enfants Malades (AP-HP), Paris, France
4. Service de radiologie et d'imagerie médicale, UMR1163, Université Paris Descartes-Sorbonne Paris Cité, Institut Imagine, Hôpital Necker Enfants Malades (AP-HP), Paris, France
5. Laboratoire de Génétique moléculaire, Hôpital Necker Enfants Malades (AP-HP), Paris, France
6. Service d'histologie, embryologie et cytogénétique, UMR1163, Université Paris Descartes-Sorbonne Paris Cité, Institut Imagine, Hôpital Necker Enfants Malades (AP-HP), Paris, France
7. UMR1163, Université Paris Descartes-Sorbonne Paris Cité, Institut Imagine, Hôpital Necker Enfants Malades (AP-HP), Paris, France

**Mots clefs :** SHANK3, délétion 22q13.3, autisme, trouble désintégratif de l'enfance, syndrome de Heller, régression, trouble envahissant du développement

### Résumé :

En 1908, Theodor Heller, pédagogue viennois, publie l'observation de six enfants présentant une régression comportementale débutant vers la troisième année de vie et aboutissant rapidement à une démence sévère, qu'il dénomme *dementia infantilis*.

Ce trouble est caractérisé par i) un début vers 3 ou 4 ans après une période de développement apparemment normale, ii) une régression sévère avec une perte progressive du langage, des compétences sociales et adaptatives, des activités de jeux et du contrôle sphinctérien, iii) une période prodromale marquée par une instabilité psychomotrice extrême, passant sans finalité d'une activité à une autre, des épisodes d'angoisse majeure (pleurs, cris, colères,..) faisant soupçonner des phénomènes hallucinatoires et des symptômes moteurs et/ou neuro-végétatifs, et iiiii) un pronostic défavorable avec détérioration intellectuelle sévère.

Depuis, ce trouble appelé également démence infantile, psychose désintégrative ou syndrome de Heller, a été introduit en 1994 dans le DSM-IV sous le terme de trouble désintégratif de l'enfance au sein des troubles envahissants sous l'influence de F. Volkmar (1992) même si sa validité est discutée (Rutter et Schopler, 1992). En 2014, il a été exclu, dans le DSM-V, du spectre des troubles du spectre autistique du fait de la régression importante, notamment de la perte du contrôle sphinctérien.

Sa prévalence est estimée à moins de 2 pour 100 000 (Fombonne, 2002) et son étiologie est inconnue.

Nous décrivons le cas d'un enfant de 10 ans qui présente toutes les caractéristiques de ce trouble neurodéveloppemental et dont le bilan a mis en évidence une délétion dans le gène *SHANK3* emportant les 17 premiers exons, très similaire à celle déjà rapportée chez une autre patiente (Patient 37, Bonaglia et al, 2014).

Ces périodes de régression ont été mentionnées dans d'autres cas de mutations de *SHANK3*: soit de façon inaugurale, après un développement normal jusqu'à 2 ans (Nemirovsky et al, 2015), soit secondairement, au cours du trouble du développement, dans la petite enfance (Hara et al, 2015 ; Cochoy et al, 2015) ou plus tardivement à l'adolescence (Vukurovik et al, 2012 ; Serret et al, 2015).

Notre observation confirme la fréquence de la régression dans l'histoire naturelle des patients porteurs de mutations ponctuelles ou de délétions partielles de *SHANK3*, qui est plus rarement décrite comparativement dans les cas de délétions 22q13.3.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #3233 : BPES : Variations de FOXL2 ou délétion d'une région régulatrice de sa transcription incluant PISRT1

#### Auteurs :

Florence ROUCHER BOULEZ (1), Nicolas CHATRON (2), Yves MOREL (1), Laurent PASQUIER (3)

1. Laboratoire d'Endocrinologie Moléculaire et Maladies Rares, Hospices Civils de Lyon, Lyon Bron, France
2. Laboratoire de Cytogénétique Constitutionnelle, Hospices Civils de Lyon, Lyon Bron, France
3. Service de génétique clinique, CHU de Rennes-Hôpital Sud, Rennes, France

**Mots clefs :** BPES, IOP, insuffisance ovarienne prématurée, FOXL2, PISRT1

#### Résumé :

Le syndrome Blépharophimosis-Ptosis Epicanthus inversus (BPES, OMIM #110100) est une affection rare à transmission autosomique dominante associée (type 1) ou non (type 2) à une insuffisance ovarienne prématurée (IOP). Le diagnostic est clinique associant la triade ophtalmologique caractéristique, un télécanthus et un développement neurologique normal. Il est lié dans 88% des cas à des variations dans le gène *FOXL2* (72% mutations intra-géniques, 10% de délétions du gène, 2% de remaniements équilibrés, et 4% de délétions proche de *FOXL2*). *FOXL2* est nécessaire à la mise en place et au maintien du fonctionnement ovarien.

Nous rapportons le cas d'une petite fille âgée de 18 mois avec un BPES diagnostiqué à la naissance. Elle est la seule enfant d'un couple non consanguin. Les parents n'ont pas d'antécédents personnels ou familiaux contributifs. Elle est née prématurément (35SA+6j) et a un développement tout à fait normal. Aucun autre élément malformatif n'est mis en évidence.

Le séquençage du gène *FOXL2* par technique de Sanger ne retrouvant aucune variation, la recherche d'une délétion a été réalisée par MLPA, mettant en évidence une délétion de *PISRT1* situé en 5' du gène *FOXL2*. Une Analyse chromosomique sur puce à ADN a permis de borner cette délétion, d'une taille de 157kb (chr3 :138,869,468-139,026,985[hg19]). L'étude parentale a montré que cette délétion était survenue *de novo*.

4 cas de délétions en amont du gène *FOXL2* sont décrits dans la littérature, allant de 7,4 à 244 kb et incluant le gène *PISRT1*. Les premières délétions décrites contenaient *PISRT1* (gène non codant PIS-regulated transcript 1) et le locus orthologue humain responsable du Polled Intersex Syndrome (PIS) chez la chèvre, premier modèle animal de BPES avec une intersexualité. La délétion du locus PIS chez la chèvre est responsable d'une diminution de la transcription de *FOXL2* et *PISRT1*. L'hypothèse est que cette région contient des séquences non codantes conservées qui seraient des éléments régulateurs cis de la transcription. La plus petite délétion de 7,4kb chez l'homme a permis de caractériser un élément en particulier interagissant avec le promoteur de *FOXL2* et nécessaire à sa transcription. Cet élément chez l'homme est au niveau de *PISRT1* et non du locus orthologue humain de PIS.

En conclusion, lors d'une suspicion de BPES, si aucune mutation de *FOXL2* n'est retrouvée, une délétion du gène mais également des régions en amont et en aval de celui-ci doivent être recherchées et bornées. En fonction de la taille et de la position de la délétion d'autres anomalies cliniques peuvent être retrouvées (microcéphalie...). Les deux patientes avec le même type de délétion que notre patiente n'ont pas d'IOP mais les rapports sont peu nombreux et un suivi de la puberté semble recommandé par mesure préventive. En cas d'IOP, une cryopreservation d'ovocytes pourrait alors être rapidement proposée ainsi que des traitements hormonaux pour diminuer les symptômes post ménopause.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #3235 : Les facteurs de risque de dissection aortique chez les patients porteurs d'une mutation dans les gènes *TGFBR1* ou *TGFBR2*. Le Montalcino Aortic Consortium.

#### Auteurs :

Myrtille SPENTCHIAN (1), Guillaume JONDEAU (1), Jacques ROPERS (2), Ellen REGALADO (3), Alan BRAVERMAN (4), Arturo EVANGELISTA (5), G. TEIXIDO (5), Julie DE BACKER (6), Laura MUINO MOSQUERA (6), Sophie NAUDION (7), Cécile ZORDAN (8), Takayuki MORISAKI (9), Hiroko MORISAKI (9), Yskert VON KODOLITSCH (10), Sophie DUPUIS-GIROD (11), Shaine MORRIS (12), Richmond JEREMY (13), Sylvie ODENT (14), Maud LANGEAIS (15), Olivier MILLERON (1), Catherine BOILEAU (16), Reed PYERITZ (17), Dianna MILEWICZ (18)

1. CNMR Syndrome de Marfan et apparentés, CHU BICHAT, PARIS, France
2. CNMR Syndrome de Marfan et apparentés, CHU Ambroise Paré, BOULOGNE-BILLANCOURT, France
3. Service de Génétique, UTHealth, TEXAS, Etats-Unis
4. Service de Cardiologie, Washington University, Washington, Etats-Unis
5. Service de Cardiologie, Hospital Universitari Vall d'Hebron, BARCELONA, Espagne
6. Service de Génétique, Pediatrics Ghent University Hospital, GENT, Belgique
7. Service de Génétique Médicale, CHU BORDEAUX, BORDEAUX, France
8. Service de Génétique, CHU BORDEAUX, BORDEAUX, France
9. Service de Cardiologie, National Cerebral and Cardiovascular Center, OSAKA, Japon
10. Service de Cardiologie, UKE - Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf, HAMBURG, Allemagne
11. Service de Génétique, CHU LYON, LYON, France
12. Service de Cardiologie, Texas Children's Hospital , HOUSTON, Etats-Unis
13. Service de Cardiologie, University of Sydney and Royal Prince Alfred Hospital, Sydney, Etats-Unis
14. Service de Génétique Clinique, CHU RENNES, RENNES, France
15. CNMR Syndrome de Marfan et apparentés, CHU BICHAT, Paris, France
16. Département de Génétique, CHU BICHAT, PARIS, France
17. Département de Génétique, University of Pennsylvania School of Medicine, Philadelphia, Etats-Unis
18. Service de Cardiologie, UTHealth, HOUSTON, Etats-Unis

**Mots clefs :** dissection aortique

#### Résumé :

La dissection aortique est la principale complication survenant chez les patients porteurs d'une mutation dans le gène *TGFBR1* ou dans le gène *TGFBR2*. On ne sait pas, actuellement, bien définir les patients à risque de présenter une dissection aortique. Nous avons tiré profit de la cohorte réunie par les centres du Montalcino Aortic Consortium pour rechercher les signes associés à la survenue d'une dissection aortique.

13 centres spécialisés dans les pathologies aortiques d'origine génétique à travers le monde ont renseigné le sexe, l'âge au diagnostic, la mutation, les événements aortiques, le score systémique proposé pour le diagnostic clinique du syndrome de Marfan, la présence des autres signes extra-aortiques rapportés dans le syndrome de Loeys Dietz (tortuosité artérielle, hypertélorisme, lnette bifide et vergetures), les événements extra-aortiques et la date du dernier suivi de leurs patients porteurs de mutations dans les gènes *TGFBR1* ou *TGFBR2*. Ces données ont été recueillies par le CNMR sur le syndrome de Marfan et apparentés.

403 patients (159 patients porteurs d'une mutation dans le gène *TGFBR1* et 244 dans le gène *TGFBR2*) ont été étudiés dont 92 ont présenté une dissection aortique. 65% des dissections aortiques sont survenues avant que le diagnostic clinique et génétique ait été établi et ce diagnostic est porté plus tardivement chez les patients ayant présenté une dissection. Le score systémique proposé pour le diagnostic clinique du syndrome de Marfan ne permet pas de définir un groupe à risque de dissection aortique. A l'inverse, la présence de signes extra-aortiques rapportés dans le syndrome de Loeys Dietz est associée à la survenue de dissection aortique. Le risque de dissection aortique est identique pour les patients porteurs d'une mutation dans le gène *TGFBR1* (22%) et *TGFBR2* (23%). Cependant :

- Le diamètre des sinus de Valsalva avant ou au moment de la dissection aortique de type A est en moyenne plus élevé chez les patients *TGFBR1* par rapport aux patients *TGFBR2* (65mm contre 50mm).
- Les dissections aortiques de type B sont moins fréquentes chez les patients *TGFBR1* par rapport aux patients *TGFBR2* (6% contre 12%)

- les hommes *TGFBR1* ont un risque supérieur de dissection aortique ou de chirurgie aortique par rapport aux femmes *TGFBR1* (53.7% des hommes {âge moyen 27ans} contre 29.3% des femmes {âge moyen 34ans}) alors que le risque est le même entre les hommes et les femmes *TGFBR2* (46.2% des hommes {âge moyen 32ans} contre 40.5% des femmes {âge moyen 30ans}).

Une dissection aortique survient chez  $\frac{1}{4}$  des patients, plus fréquemment en présence des signes cliniques du syndrome de Loeys Dietz, et est favorisée par un diagnostic tardif.

La prévalence des événements aortiques diffère en fonction du sexe pour les porteurs de mutation dans le gène *TGFBR1*, alors qu'elle est identique pour ceux ayant une mutation dans *TGFBR2*. Ce résultat pourrait permettre d'affiner les indications chirurgicales.

**#3238 : Hypoplasie fovéolaire et nystagmus sans anomalie irienne causés par une mutation perte de fonction de PAX6**

**Auteurs :**

Anne-Sophie Denommé-Pichon (1), Sarah Chevalier (2), Xavier Zanlonghi (3), Véronique Gaston (4), Estelle Colin (1), Nicolas Chassaing (4), Patrick Calvas (4), Dominique Bonneau (1)

1. Département de biochimie et génétique, CHU d'Angers, Angers, France
2. Département d'ophtalmologie, CHU de Tours, Tours, France
3. Laboratoire Vision, Clinique Sourdille, Nantes, France
4. Département de génétique médicale, CHU de Toulouse, Toulouse, France

**Mots clefs :** Ophtalmologie, aniridie, PAX6, mutation perte de fonction

**Résumé :**

**Introduction :** Le gène *PAX6* est impliqué dans diverses manifestations oculaires. Ce gène code pour un facteur de transcription jouant un rôle fondamental dans le développement de l'œil. L'aniridie est typiquement associée à des mutations introduisant un codon stop prématuré, alors que les mutations faux-sens, dont la majorité est localisée dans les domaines *paired*, conduisent à des phénotypes variés.

**Patients et méthodes :** Nous présentons le cas de 4 individus appartenant à deux familles non apparentées, ayant une hypoplasie fovéolaire et un nystagmus sans aniridie, chez qui le gène *PAX6* a été séquencé par électrophorèse capillaire.

**Résultats :** Une mutation hétérozygote (c.112delC) dans l'exon 5 a été mise en évidence chez les 4 patients. Cette délétion entraîne un décalage du cadre de lecture et l'apparition d'un codon stop prématuré. Elle conduit à la perte partielle du domaine *paired* et à la perte complète de l'homéodomaine et du domaine de transactivation de la protéine PAX6. Il en résulte une dégradation de l'ARNm non-sens, responsable d'une haploinsuffisance de *PAX6*.

**Discussion :** Ce variant est décrit chez 8 familles avec aniridie dans la base de données *MRC Human Genetics Unit LOVD*, répertoriant les mutations du gène *PAX6*. C'est, à notre connaissance, la première fois que ce variant est décrit chez des patients sans aniridie.

Ainsi, une mutation perte de fonction de *PAX6*, le plus souvent associée à un phénotype d'aniridie, peut être également observée chez des patients ayant une hypoplasie fovéolaire et un nystagmus sans anomalie irienne. Cela illustre la grande variabilité phénotypique et contredit la corrélation génotype-phénotype entre l'haploinsuffisance de *PAX6* et la présence d'une aniridie.

**Conclusion :** Les mutations perte de fonction de *PAX6*, le plus souvent responsables d'aniridie, peuvent également être responsables d'hypoplasie fovéolaire et de nystagmus sans anomalie irienne et doivent être évoquées devant un tel phénotype.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

**#3239 : Le « Cakutome », un outil de séquençage haut-débit ciblé pour le diagnostic moléculaire et l'identification de nouveaux gènes impliqués dans les anomalies du développement rénal et des voies urinaires**

### Auteurs :

Cécile Jeanpierre (1), Camille Humbert (1), Vincent Morinière (2), Raphaëlle Campait (2), Olivier Alibeu (3), Cécile Fourrage (4), Christine Bole-Feysot (3), Patrick Nitschké (4), Rémi Salomon (5), Corinne Antignac (6), Laurence Heidet (5)

1. Laboratoire des Maladies Rénales Héritaires, Inserm U1163, Institut Imagine, Université Paris Descartes-Sorbonne Paris Cité, Paris, France
2. Service de Génétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
3. Plateforme de Génomique, Institut Imagine, Paris, France
4. Plateforme de Bioinformatique, Université Paris Descartes-Sorbonne Paris Cité, Institut Imagine, Paris, France
5. Service de néphrologie pédiatrique, Centre de Référence des Maladies Rénales de l'Enfant et de l'Adulte (MARHEA), Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
6. Laboratoire des Maladies Rénales Héritaires/Service de Génétique, Inserm U1163, Institut Imagine, Université Paris Descartes-Sorbonne Paris Cité, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France

**Mots clefs :** rein, développement, hétérogénéité génétique, séquençage haut-débit ciblé, diagnostic, nouveaux gènes

### Résumé :

Les anomalies congénitales des reins et des voies urinaires (CAKUT) sont une cause majeure d'insuffisance rénale de l'enfant. Les CAKUT sont des pathologies génétiquement et phénotypiquement hétérogènes. Des mutations de plus de 50 gènes ont été rapportées dans des formes isolées ou syndromiques. Il s'agit le plus souvent de mutations hétérozygotes et les gènes les plus fréquemment impliqués sont les facteurs de transcription *HNF1B*, *PAX2* et *EYA1/SIX1*. Ces gènes, testés en routine dans le cadre du diagnostic, permettent d'expliquer 15-20% des cas. La plupart des autres gènes ne concernent qu'une minorité de patients et leur implication n'est pas toujours réellement établie.

Afin d'améliorer l'efficacité du diagnostic génétique en testant l'ensemble des gènes connus, et d'identifier de nouveaux gènes responsables, nous avons développé une stratégie de séquençage haut débit ("Cakutome", technologie Agilent SureSelect) ciblant 388 gènes: gènes de CAKUT établis ou probables, gènes invalidés dans des modèles murins d'anomalies de développement rénal, gènes impliqués dans des processus cellulaires/signalisations importants pour le développement rénal, et gènes candidats identifiés par séquençage d'exome de cas familiaux de CAKUT. 169 échantillons ont été analysés, 63 préalablement testés pour *HNF1B*, *PAX2*, *EYA1* et/ou *SIX1* et sans mutation identifiée et 106 nouveaux cas.

Nous avons identifié des mutations/délétions d'*HNF1B*, *PAX2*, *EYA1* ou *SIX1* chez 21 des 106 patients. Ce taux est globalement similaire à celui obtenu par séquençage Sanger. Cependant, l'approche Cakutome a permis d'identifier deux délétions dans *PAX2* qui n'auraient pas été trouvées par analyse Sanger. L'identification de mutations dans les gènes *KAL1* (syndrome de Kallmann), *GATA3* (syndrome HDR : hypoparathyroïdie, surdité, rein) ou *SALL1* (syndrome de Townes-Brocks) chez 4 fœtus/patient avec CAKUT isolé, ainsi que d'une mutation d'*EYA1* chez un patient chez lequel seuls *HNF1B* et *PAX2* avaient été testés, nous ont permis de faire le diagnostic chez ces patients.

Cette étude a également mis en évidence des variations potentiellement pathogènes (non-sens, délétions intragéniques, faux-sens prédits délétères) dans plusieurs gènes, dont certains non encore rapportés chez les patients CAKUT. Dans 4 familles, l'association de variations hétérozygotes dans deux gènes suggère une possible épistasie. Enfin, l'étude de 38 fœtus avec agénésie rénale bilatérale (ARB) n'a pas permis d'identifier de nouvelle mutation d'*ITGA8* et *FGF20*, deux gènes identifiés par notre équipe dans des ARB récessives.

Cette étude souligne la complexité de la génétique des CAKUT. Une difficulté est liée à l'interprétation des variants rares dans le contexte de mutations principalement dominantes à expressivité variable. Ces résultats suggèrent l'existence au moins dans certains cas d'une hérédité complexe et/ou le rôle de facteurs environnementaux et épigénétiques, contribuant à la survenue et à l'hétérogénéité des CAKUT.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #3242 : RASopathies et NGS ciblé : une nouvelle approche d'analyse moléculaire dans une cohorte de patients Tunisiens

#### Auteurs :

Nehla GHEDIRA (1), Arnaud Lagarde (2), Lilia Kraoua (3), Emna Kerkeni (1), Rania Sakka (4), Karim Ben Ameer (4), Fatma Zohra Chioukh (5), Sylviane Olschwang (6), Jean-Pierre Desvignes (7), Chaima Ktaifi (8), Sonia Abdelhak (8), Ridha Mrad (9), Kamel Monastiri (5), Nicolas Lévy (10), Annachiara De Sandre-Giovannoli (10)

1. l'unité de recherche de Génétique des processus évolutifs et adaptatifs & Etiopathogénie des maladies périnatales et néonatales (UR12ES10), Université de Monastir, Monastir, Tunisie
2. INSERM, GMGF UMR\_S 910, Marseille Université, Marseille, France
3. Service des Maladies héréditaires et congénitales, Hôpital Charles Nicolle, Tunis, Tunisie
4. Département de Pédiatrie-Néonatalogie, CHU Fattouma Bourguiba, Monastir, Tunisie, Monastir, Tunisie
5. Département de Pédiatrie-Néonatalogie, CHU Fattouma Bourguiba, Monastir, Tunisie, Monastir, France
6. : Département de Génétique Médicale, Laboratoire de Génétique moléculaire, Hôpital La Timone Enfants, 264 Rue Saint Pierre, 13005 Marseille, Marseille, France
7. INSERM, GMGF UMR\_S 910, Aix Marseille Université, INSERM, GMGF UMR\_S 910, 13385, Marseille, France, Marseille, France
8. Laboratoire Génomique Biomédicale et oncogénétique, Institut Pasteur, Tunis, Tunisie, France
9. Service des Maladies héréditaires et congénitales, Hôpital Charles Nicolle, Tunis, Tunisie, France
10. INSERM, GMGF UMR\_S 910, Marseille Université, Marseille, France

**Mots clefs :** RASopathies, syndrome de Noonan, NGS, voie RAS MAPKinase

#### Résumé :

Les RASopathies sont un groupe de maladies génétiques causées par des mutations dans les gènes de la voie de signalisation RAS-MAPKinases. Elles partagent, à des degrés divers, des traits dysmorphiques cranio-faciaux, un retard staturo-pondéral, des cardiopathies, des anomalies squelettiques et cutanées ainsi qu'un déficit intellectuel. Une prédisposition au développement tumoral est associée à certaines RASopathies. L'approche classique pour identifier des mutations chez les patients atteints de RASopathies est basée sur le séquençage en Sanger des exons « hotspots » des gènes impliqués. Néanmoins, beaucoup de cas demeurent sans confirmation moléculaire.

Les récentes avancées technologiques dans le séquençage de nouvelle génération offrent la possibilité d'explorer le génome humain de façon rapide et relativement exhaustive.

Dans ce contexte, une technique de séquençage massif et parallèle de différentes cibles génomiques a été utilisée afin d'identifier les mutations pathogènes dans une cohorte de 30 patients tunisiens avec un diagnostic clinique de RASopathies.

Le design d'un panel de 29 gènes impliqués dans les RASopathies a été réalisé sur la plateforme Agilent en vue du séquençage des 30 patients en NGS sur une plateforme Ion Torrent PGM. Les données générées ont été analysées en utilisant un logiciel bioinformatique développé en interne pour l'annotation (VarAFT). Le séquençage Sanger a été utilisé en deuxième intention pour analyser les zones mal couvertes des exons fréquemment mutés, valider la présence des mutations identifiées, étudier leur mode de transmission lorsque les parents étaient disponibles.

Cette approche nous a permis d'obtenir une couverture moyenne de 93,73 % des régions d'intérêt avec une profondeur de lecture de 20X au minimum.

27 variants hétérozygotes prédits comme pathogènes ou probablement pathogènes ont été identifiés dans 70% des patients (21/30). 14 variants ont déjà été rapportés dans la littérature, avec une prédominance de mutations localisées dans le gène *PTPN11*, tandis que 13 sont nouvelles et localisées dans plusieurs gènes (*RRAS*, *RASA1*, *KAT6B*, *SOS2*...)

Les résultats moléculaires sont concordants avec le tableau clinique préétabli chez 17 des 21 patients. Une reclassification clinique est envisagée pour 4 patients sur la base des données moléculaires obtenues.

Les résultats de notre étude prouvent l'efficacité d'une approche de type NGS ciblé pour la détection des mutations pathogènes dans les RASopathies. Dans ce cadre, ce type d'analyse moléculaire deviendra rapidement déterminant pour confirmer le diagnostic clinique de façon rapide et à coût raisonnable, permettant d'améliorer la prise en charge des patients et le conseil génétique. Les données issues de ce type de travail permettront par ailleurs d'améliorer nos connaissances sur les corrélations génotype/phénotype dans le cadre de ce groupe de pathologies hétérogènes mais étroitement liées du point de vue fonctionnel.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

**#3257 : Spectre clinique associé aux mutations du gène POGZ : déficience intellectuelle syndromique ou isolée, à travers 5 observations**

### Auteurs :

Daphné Lehalle (1), Bruno Delobel (2), Christel Depienne (3), Bénédicte Gérard (4), David Geneviève (5), Aurélia Jacqueline (3), Boris Keren (3), Paul Kuentz (1), Cyril Mignot (3), Laurence Perrin (6), Fabienne Prieur (7), Christel Thauvin (1), Laurence Faivre (1), Amélie Piton (8), Julien Thevenon (1)

1. Fédération Hospitalo-Universitaire Médecine Translationnelle et Anomalies du Développement (TRANSLAD), Centre Hospitalier Universitaire Dijon, 21079 Dijon, France, Dijon, France
2. Service de Génétique Médicale, Hôpital Saint Vincent de Paul, Lille, France
3. Service de Génétique Médicale, Hôpital Pitié Salpêtrière, Paris, France
4. Laboratoire de diagnostic génétique, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
5. Service de Génétique Médicale, CHU de Montpellier, Montpellier, France
6. Service de Génétique Médicale, Hôpital Robert Debré, Paris, France
7. Service de Génétique Médicale, CHU de Saint Etienne, Saint Etienne, France
8. Département Médecine translationnelle et neurogénétique, Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire (IGBMC), Institut National de Santé et de Recherche Médicale, Université de Strasbourg, 67404 Illkirch, Strasbourg, France

**Mots clefs :** POGZ, déficience intellectuelle

### Résumé :

Le développement du séquençage d'exome a permis ces dernières années l'identification de nouveaux gènes impliqués dans la déficience intellectuelle (DI), syndromique ou isolée. *POGZ* (Pogo Transposable Element With ZNF Domain) code pour la protéine POGZ, qui joue un rôle dans la progression mitotique et la prolifération neuronale en particulier, par le biais d'une interaction avec Aurora kinase B et CBX5. A ce jour, sept variations *de novo* dans le gène *POGZ*, identifiées par séquençage d'exome, ont été rapportées chez des individus adressés pour autisme ou déficience intellectuelle syndromique, associée à de anomalies ophtalmologiques, une microcéphalie, des malformations uro-génitales ou une épilepsie.

Nous rapportons ici une série de cinq patients français, constituée grâce à un travail actif de partage des données, chez lesquels le séquençage massif en parallèle- par séquençage de l'exome (2 patients) ou panel (3 individus)- a permis de mettre en évidence une variation tronquante survenue *de novo* dans le gène *POGZ*. Deux individus présentent une déficience intellectuelle d'allure isolée ; trois autres partagent un tableau syndromique très similaire associant à une DI modérée à sévère une microcéphalie <-3 DS, une atteinte ophtalmologique à type de rétinopathie, de nystagmus ou de strabisme, des troubles du comportement du spectre autistique, une CIA, et une dysmorphie faciale semblable avec un épicanthus, une lèvre supérieure en chapeau de gendarme, un prognathisme et des narines antéversées. Ce travail sera associé à une série internationale de 25 patients porteurs de variations tronquantes de *POGZ*.

Cette série permet une meilleure caractérisation clinique du spectre associé aux mutations tronquantes du gène *POGZ*, responsable de DI isolée ou syndromique, alors probablement reconnaissable. Elle souligne de plus l'intérêt du partage de données indispensable dans l'établissement de corrélations génotype-phénotype pour des pathologies rarissimes.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #3259 : Les mutations et délétions de STAG1 sont responsables de déficience intellectuelle syndromique ou isolée

#### Auteurs :

Daphné Lehalle (1), Anne-Laure Mosca-Boidron (1), Perrine Charles (2), Christian Gilissen (3), Aurélia Jacquette (2), Alice Masurel (1), Hilde Olivié (4), Anita Rauch (5), Deborah Shears (6), Julien Thevenon (1), Marjolein Willemsen (7), Christiane Zweier (8), Patrick Callier (1), Christel Thauvin (1), Laurence Faivre (1)

1. Fédération Hospitalo-Universitaire Médecine Translationnelle et Anomalies du Développement (TRANSLAD), Centre Hospitalier Universitaire Dijon, 21079 Dijon, France, Dijon, France
2. Service de Génétique Médicale, Hôpital Pitié Salpêtrière, Paris, France
3. Département de Génétique humaine, Radboud Institute for Molecular Life Sciences and Donders Centre for Neuroscience, Radboud University Medical Center, Geert Grooteplein 10, 6525 GA Nijmegen, Nijmegen, Pays-Bas
4. Département de génétique Humaine, KU University Hospital Leuven, Leuven, Belgique
5. Institut de Génétique médicale, University of Zurich, 8603 Schwerzenbach-Zurich, Zurich, Suisse
6. Département de Génétique Clinique, Churchill Hospital, Oxford University Hospitals NHS Foundation Trust, Oxford, Royaume Uni
7. Département de génétique Humaine, Radboud Institute for Molecular Life Sciences and Donders Centre for Neuroscience, Radboud University Medical Center, Geert Grooteplein 10, 6525 GA Nijmegen, Nijmegen, Pays-Bas
8. Département de génétique Humaine, Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg, 91054 Erlangen, Erlangen, Allemagne

**Mots clefs :** STAG1, déficience intellectuelle, cohésinopathie

#### Résumé :

Les cohésinopathies sont des pathologies rares résultant d'une dysfonction dans la voie des cohésines, qui permettent la ségrégation des chromosomes et la division cellulaire. Huit gènes appartenant à cette voie ont été décrits en pathologie humaine, impliqués dans les syndromes de Cornelia de Lange (*NIPBL*, *SMC3*, *RAD21*, *SMC1A*, *HDAC8*), CHOPS (*AFF4*), Roberts (*ESCO2*) et Warsaw (*DDX11*). Ces pathologies sont caractérisées par un tableau clinique sévère associant déficience intellectuelle, retard de croissance, microcéphalie, malformations viscérales et dysmorphie évocatrice. *STAG1* appartient à la sous-unité STAG du complexe cohésine qui, avec trois autres sous-unités, est responsable de la cohésion entre chromatides sœurs.

Nous rapportons ici une série internationale, obtenue grâce à une démarche active de partage des données, composée de six individus non apparentés. Ces patients ont été référés en consultation de génétique pour exploration d'une déficience intellectuelle modérée à sévère, isolée ou sporadique, associée à un retard de croissance (2 individus), une microcéphalie (2 individus), une épilepsie (2 individus) ou des troubles du comportement (2 individus). Les six patients partagent des caractéristiques faciales communes, avec une bouche large, une racine du nez saillante, une énoptalmie et des sourcils fins. Une délétion emportant *STAG1* a été mise en évidence par CGH-array ou séquençage de génome chez respectivement deux et un patient ; un séquençage d'exome a révélé chez trois autres individus une mutation faux-sens dans le gène *STAG1*. Tous les variants sont *de novo*.

Cette série permet de décrire le phénotype lié aux mutations et délétions du gène *STAG1*, et met en exergue l'importance du partage de données à l'échelle internationale dans les maladies rares à l'ère des technologies de séquençage haut débit.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #3264 : Identification et étude d'un nouveau gène candidat dans l'hypercholestérolémie familiale

#### Auteurs :

Youmna Ghaleb (1), Sandy Elbitar (1), Petra El khoury (2), Jean-Pierre Rabès (3), sur l'Hypercholestérolémie Familiale Réseau National de Recherche (3), Catherine Boileau (1), Marianne Abifadel (2), Mathilde Varret (1)

1. INSERM U1148, CHU Bichat, Paris, France

2. Laboratoire de Biochimie et Thérapies Moléculaires, Faculté de Pharmacie et Pôle Technologie Santé, Université Saint-Joseph, Beyrouth, Liban

3. Laboratoire de Biochimie et de Génétique Moléculaire, Hôpital Ambroise-Paré, BOULOGNE BILLANCOURT, France

**Mots clés :** Hypercholestérolémie familiale, Cholestérol, LDL-cholestérol, Gènes, Exome sequencing, Séquençage, Variations, Métabolisme du cholestérol, ADH, mutagenèse dirigée.

#### Résumé :

**Introduction:** L'hypercholestérolémie, une des causes majeures des maladies cardiovasculaires, touche un sujet sur 20 dans la population générale. Elle est caractérisée par une élévation des taux plasmatiques de cholestérol total et de LDL-cholestérol. Les gènes *LDLR* et *APOB*, codant respectivement le récepteur des LDLs et son ligand l'apolipoprotéine B, sont les deux gènes majeurs impliqués dans l'hypercholestérolémie familiale à transmission autosomique dominante (ADH). En 2003, *PCSK9* (proprotéin convertase subtilisin kexin) fut identifié comme étant le troisième gène jouant un rôle majeur dans la régulation des taux plasmatiques de LDL-cholestérol (Abifadel et al. *Nature Genetics*, 2003). Cependant, ces trois gènes à eux seuls n'expliquent pas tous les cas d'ADH. Le but de notre étude est donc de rechercher de nouveaux facteurs génétiques responsables de cette pathologie.

**Méthode :** Grâce au Réseau de Recherche sur les Hypercholestérolémies Familiales (mis en place par le Pr. BOILEAU il y a 10 ans et composé de 14 centres cliniques répartis en France), plus de 1000 familles ADH ont été recrutées dont 198 familles dans lesquelles les trois gènes connus comme étant responsables de l'ADH sont exclus. Treize d'entre elles ont été élargies puis étudiées par une approche de séquençage de type « whole exome ». Le tri et l'analyse des résultats de cet « exome sequencing » nous a permis de sélectionner un gène candidat, le gène *LRP6* qui code une protéine de surface membre de la famille du récepteur des LDLs. Nous avons par la suite séquencé les 23 exons de ce nouveau gène candidat chez 84 patients « non-*LDLR* / non-*APOB* / non-*PCSK9* » par la méthode de Sanger.

**Résultats :** L'analyse des résultats de « l'exome sequencing » a conduit tout d'abord à l'identification d'une première variation dans le gène *LRP6*, p.Val1382Phe qui ségrége bien dans la famille HC438. Cette variation est retrouvée dans les bases de données mais avec une fréquence très faible et est prédite comme étant délétère dans certains logiciels de prédiction (Mutation Taster et Pmut) et bénigne dans d'autres (PolyPhen-2 et SIFT). Trois autres variations (p.Tyr972Cys, p.Tyr1584Asn et p.Ser1612Phe) ont été retrouvées suite au séquençage des 23 exons de ce gène candidat. Ces variations, présentes chacune chez un patient parmi les 84 étudiés, ne sont pas encore décrites. Elles sont prédites comme étant délétères et affectant la fonction de la protéine dans la plupart des logiciels de prédiction.

**Conclusion :** Les résultats obtenus font de *LRP6* un gène candidat intéressant dans l'ADH. Une mutagenèse dirigée suivie par des études fonctionnelles *in vitro* sont actuellement en cours afin de pouvoir évaluer l'effet des variations retrouvées sur le métabolisme du cholestérol. Elles vont permettre de confirmer ou non l'implication de ce gène dans l'ADH.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #3265 : La thyroïdite de Hashimoto au Liban: étude des taux de fibrinogène, CRP, MBL et stress oxydant et effet des polymorphismes du gène SAA1

#### Auteurs :

Jose Noel Ibrahim (1), Alexandre Cheaib (2), Dania Sawan (3), Hanna Hanna (1), Rania Jounblat (1), Myrna Medlej-Hashim (1)

1. Département des Sciences de la Vie et de la Terre (SVT), Faculté des Sciences II, Université Libanaise, Fanar, Liban

2. Département d'Endocrinologie, Hôpital Universitaire du Sacré Cœur, Beyrouth, Liban

3. Département des Sciences de la Vie et de la Terre (SVT), Faculté des Sciences II, Université Libanaise, Beyrouth, Liban

**Mots clefs :** thyroïdite, Hashimoto, Liban, fibrinogène, CRP, MBL, stress oxydant, SAA1

#### Résumé :

**La thyroïdite de Hashimoto au Liban: étude des taux de fibrinogène, CRP, MBL et stress oxydant et effet des polymorphismes du gène SAA1**

Jose Noel Ibrahim<sup>1,2</sup>, Alexandre Cheaib<sup>3</sup>, Dania Sawan<sup>1,2</sup>, Hanna Hanna<sup>1,2</sup>, Rania Jounblat<sup>2</sup>, Myrna Medlej-Hashim<sup>1,2</sup>

1: ER030, Ecole Doctorale des Sciences et Technologies (EDST), Université Libanaise, Liban

2: Département des Sciences de la Vie et de la Terre, Faculté des Sciences II, Université Libanaise, Liban

3: Département d'Endocrinologie, Hôpital Universitaire du Sacré Cœur, Liban

**La thyroïdite de Hashimoto est la maladie auto-immune la plus fréquente de la thyroïde. Les marqueurs biochimiques de la maladie sont les autoanticorps contre la peroxydase thyroïdienne et la thyroglobuline. Bien que le mécanisme exact de la maladie et l'étiologie ne soient pas clairs, cette maladie est multifactorielle impliquant à la fois des gènes de susceptibilité, et des facteurs environnementaux. Cette étude a pour objectif d'investiguer d'une part, les taux des marqueurs inflammatoires CRP, fibrinogène, SAA et MBL, ainsi que les espèces réactives oxygénées chez les patients Hashimoto Libanais confirmés, et de rechercher, d'autre part, une éventuelle association entre les polymorphismes du gène SAA1 au niveau des codons 52 et 57, constituant les trois isotopes alpha (Val52-Ala57), beta (Ala52-Val57), et gamma (Ala52-Ala57) de la protéine et la thyroïdite de Hashimoto.**

Vingt et un patients ayant la thyroïdite de Hashimoto et 22 contrôles ont participé à notre étude. Les taux de CRP, fibrinogène, SAA et MBL ont été dosés par ELISA. La catalase, anti-oxydant enzymatique, et le MDA, marqueur de la peroxydation lipidique, ont été évalués par spectrophotométrie. Les polymorphismes du gène SAA1 ont été étudiés par PCR-digestion.

Une augmentation significative des taux de fibrinogène et de MDA a été observée chez les patients comparés aux contrôles, suggérant un certain degré d'inflammation systémique chez les patients atteints de la thyroïdite de Hashimoto, indépendamment du stade de la maladie et du statut de la fonction de la thyroïde. Par contre, aucune différence significative n'a été observée entre les taux de CRP, SAA, MBL et catalase chez les patients et les contrôles. Quant aux polymorphismes du gène SAA1, les isoformes  $\alpha$  et  $\beta$  ont été observés à la fois chez les patients et les contrôles. Par contre, l'allèle  $\gamma$  a été détecté chez un seul contrôle. Fait intéressant, un nouvel isoforme de la protéine SAA1 (Val52-Val57) que nous avons nommé "  $\epsilon$  " a été observé chez deux patients Hashimoto Libanais. Cependant, aucune association significative n'a été trouvée entre les génotypes et les allèles testés et l'occurrence de la maladie.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #3266 : Carcinomes basocellulaires hérités et sporadiques : une activation aberrante de la voie Sonic Hedgehog liée à des mutations dans ACTRT1 et ses éléments régulateurs

#### Auteurs :

Elodie Bal (1), Zakia Belaid-Choucair (1), Hülya Kayserili (2), Magalie Naville (3), Marine Madrange (1), Christopher Gordon (1), Hyun-Sook Park (4), Smail Hadj-Rabia (5), Cindy Le Gall (1), Francine Cote (6), Sylvain Hanein (1), Rasim Özgür Rosti (2), Ayca Dilruba Aslanger (7), Philippe Guigue (1), Mourad Sahbatou (8), Christine Bodemer (5), Olivier Hermine (1), Fanny Morice-Picard (9), Bruno Labeille (10), Frederic Caux (11), Juliette Mazereeuw-hautier (12), Meng-er Huang (13), Zosia Miedzybrodzka (14), Alexa Kidd (15), Nicole Philip (16), Nicolas Levy (17), Alain Taieb (9), Marie-françoise Avril (18), Daniel Hohl (4), Gabor Guapay (19), Sylvie Fraïtag (20), Hugues Roest Crollius (3), Pierre Vabres (21), Arnold Munnich (1), Asma Smahi (1)

1. INSERM U1163, Institut Imagine, PARIS, France
2. Istanbul Medical Faculty, Medical Genetics Department, Istanbul, Turquie
3. Institut de Biologie de l'ENS, IBENS, CNRS UMR8197,INSERM U1024, Institut de Biologie de l'ENS, IBENS, CNRS UMR8197,INSERM U1024, PARIS, France
4. Service de Dermatologie et Vénérologie , , Lausanne, Suisse
5. Service de dermatologie, Hôpital Necker Enfants-Malades, INSERMU1163, Institut Imagine, PARIS, France
6. CNRS UMR8147, Institut Imagine, PARIS, France
7. Istanbul Medical Faculty, Medical Genetics Department, Istanbul, France
8. Centre d'Etude du Polymorphisme Humain, Fondation Jean Dausset, PARIS, France
9. Service de dermatologie, Hôpital Saint André, Service de dermatologie, Hôpital Saint André, Bordeaux, France
10. Service de dermatologie, CHU Hôpital Nord, Service de dermatologie, CHU Hôpital Nord, Saint Etienne, France
11. Service de dermatologie, Hôpital Avicenne, Service de dermatologie, Hôpital Avicenne, Bibigny, France
12. Service de dermatologie Hôpital Larrey, Service de dermatologie Hôpital Larrey, Toulouse, France
13. CNRS UMR3348, Institut Curie , CNRS UMR3348, Institut Curie , Orsay, France
14. University of Aberdeen and North of Scotland Clinical Genetics Service, Aberdeen Royal Infirmary, University of Aberdeen and North of Scotland Clinical Genetics Service, Aberdeen Royal Infirmary, Aberdeen,
15. Canterbury Health Laboratories, Christchurch Hospital, , Canterbury Health Laboratories, Christchurch Hospital, , Christchurch, Nouvelle-Zélande
16. Département de génétique, Hôpital de la Timone, Département de génétique, Hôpital de la Timone, Marseille, France
17. Département de génétique, Hôpital de la Timone, Département de génétique, Hôpital de la Timone, Marseille, France
18. Service de dermatologie, Université Paris Descartes, Hôpital Cochin, Service de dermatologie, Université Paris Descartes, Hôpital Cochin, PARIS, France
19. Centre National de génotypage, , Evry, France
20. Service d'anatomie pathologique, Hôpital Necker Enfants-Malades, Service d'anatomie pathologique, Hôpital Necker Enfants-Malades, PARIS, France
21. Service de dermatologie, Centre Hospitalier Universitaire, Hôpital du Bocage, Service de dermatologie, Centre Hospitalier Universitaire, Hôpital du Bocage, Dijon, France

**Mots clefs :** ACTRT1, enhancer ARN, gène suppresseur de tumeur, carcinome basocellulaire, voie Sonic Hedgehog

#### Résumé :

Le carcinome basocellulaire (CBC), cancer cutané le plus fréquent, résulte d'une activation aberrante de la voie Sonic Hedgehog (SHH). Majoritairement sporadique, il est cependant associé à de rares syndromes de prédisposition au cancer comme le syndrome de Bazex-Dupré-Christol (SBDC), transmis selon le mode dominant lié au chromosome X.

L'étude de 6 familles multiplex concernées par un SBDC nous a permis d'identifier, chez 2 d'entre elles, une mutation tronquante dans le gène *ACTRT1*, codant la protéine Arp-T1. Dans l'épiderme, la protéine Arp-T1 est diminuée chez tous les patients atteints de SBDC, porteurs ou non de mutations dans le gène *ACTRT1*. Le séquençage à haut débit de toute la région candidate a permis d'identifier des mutations dans des régions non codantes chez les patients des 4 autres familles. Nous avons démontré que ces mutations étaient localisées dans des régions transcrites, activatrices de la transcription (enhancers ARN). Chaque mutation réduit la capacité, *in vitro*, de ces séquences à activer la transcription. Par hybridation *in situ*, nous avons démontré que ces mutations

abolissaient la transcription de ces enhancers ARN dans l'épiderme des patients. Enfin, par l'utilisation de la technologie Crispr-Cas9, nous avons démontré qu'*ACTRT1* est le gène cible de ces éléments régulateurs.

L'expression d'Arp-T1 est diminuée dans 80% des CBC sporadiques testés. Notant que la voie SHH est dérégulée dans 70 % des CBCs, nous avons démontré qu'*ACTRT1* est un nouvel inhibiteur de cette voie, en particulier par sa liaison au promoteur de *GLI1* dont il inhibe l'expression.

*ACTRT1* est un nouveau gène suppresseur de tumeur capable de réduire *in vivo* la progression tumorale de certaines lignées cancéreuses par la régulation de gènes impliqués dans la prolifération, la mort et la survie cellulaire, ou encore la migration.

Ainsi, notre étude a permis d'identifier un nouveau mécanisme responsable du CBC. Elle suggère qu'*ACTRT1* pourrait être une nouvelle cible thérapeutique dans les cancers induits par la dérégulation de la voie SHH.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #3268 : Validation technique et clinique d'un panel AmpliSeq ciblé de 10 gènes pour le diagnostic des dyslipidémies primitives par NGS

#### Auteurs :

Mathilde Di Filippo (1), Christophe Marçais (2), Oriane Marmontel (1), Véronique Bonnet (1), Sabrina Dumont (1), Mireille Delay (2), Chantal Jacobs (1), Gilles Millat (3), Kaddour Chabane (4), Thomas Simonet (4), Sybil Charrière (5), Noël Peretti (6), Alain Lachaux (6), Agnès Sassolas (1), Philippe Moulin (5)

1. UF Dyslipidémies, Département de Biochimie et Biologie Moléculaire, GHE, LBMMS, Hospices Civils de Lyon, Bron, France
2. Laboratoire de Biochimie spécialisée, CBS, LBMMS, Hospices Civils de Lyon, Pierre Bénite, France
3. Plateforme NGS Diagnostic, GHE, LBMMS, Hospices Civils de Lyon, Bron, France
4. Plateforme NGS Diagnostic, GHE, LBMMS, Hospices Civils de Lyon, Bron, France
5. Fédération d'endocrinologie, maladies métaboliques, diabète et nutrition, Hôpital Louis Pradel, Hospices Civils de Lyon, Bron, France
6. Service de Gastroentérologie Hépatologie et Nutrition Pédiatrique, HFME, Hospices Civils de Lyon, Bron, France

**Mots clefs :** hypercholestérolémie, hypocholestérolémie, hypobetalipoprotéinémie, hypertriglycéridémie, hyperchylomicronémie, mutation, CNV, NGS

#### Résumé :

**Objectif :** Le but de ce travail est de développer, valider, et tester une méthode permettant de détecter rapidement des mutations sur les gènes les plus prévalents dans les hypercholestérolémies, les hypobetalipoprotéinémies et les hypertriglycéridémies en utilisant le séquençage haut débit (NGS).

**Méthode :** un panel AmpliSeq personnalisé a été mis au point pour le séquençage NGS (Ion PGM Sequencer), de 10 gènes fréquemment impliqués dans les dyslipidémies : *LDLR*, *APOB*, *PCSK9*, *ANGPTL3*, *LPL*, *APOA5*, *GPIHBP1*, *APOC2*, *LMF1*, *CREB3L3*. La couverture a été évaluée sur les exons et jonctions introns/exons (-6 à +20pb). La validation de la technique a été réalisée en séquençant 84 échantillons d'ADN précédemment étudiés par séquençage direct (Sanger) ou MLPA en aveugle pour déterminer la sensibilité, la spécificité et la praticabilité de la technique. Secondairement, 68 échantillons d'ADN non étudiés auparavant dont 40 issus de patients présentant une hypercholestérolémie, 9 présentant une hypobetalipoprotéinémie et 19 présentant une hyperchylomicronémie primitive ont été analysés. Les analyses *in silico* ont été réalisées en utilisant les logiciels : NextGENe (alignement des séquences sur le génome humain et sur le panel de gènes, appel de variants), DeCovA (analyse des couvertures) et un tableur excel utilisant le nombre de reads (identification des grands réarrangements).

**Résultat :** Notre panel AmpliSeq permet d'explorer simultanément 91 % des gènes classiquement impliqués dans les dyslipidémies (70-99% des régions d'intérêt selon les gènes). Selon les gènes, en moyenne 2.2 (0 à 5) amplicons doivent systématiquement être séquencés par techniques Sanger (non couverts). Après modification des paramètres d'analyse par défaut, 100 % des mutations (11 substitutions, 63 insertions/délétions, 5 grands réarrangements) préalablement identifiées dans les régions couvertes ont été retrouvées. Secondairement, cette méthode a permis la mise en évidence de mutations chez 69% des patients présentant une hypercholestérolémie avec un score de Dutch supérieur à 6, 3/9 patients présentant une hypobetalipoprotéinémie et 4/19 présentant une hypertriglycéridémie, comme ce qui est observé dans la littérature. Une étude familiale est nécessaire pour déterminer si les variations observées sur le gène *APOB* chez 2/9 patients sont responsables du phénotype d'hypobetalipoprotéinémie. Enfin, des grands réarrangements (en cours de confirmation) sont suspectés chez 2 patients.

**Conclusion :** Ces résultats suggèrent que notre nouvelle approche NGS basée sur la préparation de bibliothèques AmpliSeq et sur le séquençage Ion PGM est rapide et permet d'étudier simultanément 91% des régions d'intérêt des gènes les plus fréquemment impliqués dans les dyslipidémies avec une efficacité identique au séquençage Sanger tout en dépistant des grands réarrangements. En complément du débit, le séquençage simultané de ces gènes présente l'avantage de pouvoir mettre en évidence des modulations de phénotype.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

**#3277 : La Polykystose rénale autosomique dominante de l'adulte, Intérêt de la connaissance moléculaire des gènes en 2016**

### Auteurs :

Marie Pierre AUDREZET (1), Emilie CORNEC-LE GALL (2), Jian Min CHEN (3), Yannick LE MEUR (2), Claude FEREC (1)

1. Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHRU BREST, BREST, France
2. Néphrologie, CHRU BREST, BREST, France
3. Génétique, INSERM U1078, BREST, France

**Mots clefs :** PKRAD,

### Résumé :

Deux gènes, *PKD1* et *PKD2*, sont aujourd'hui responsables de la Polykystose rénale autosomique dominante de l'adulte (PKRAD). Cette maladie génétique fréquente touche un sujet sur 400 à un sur 1000. La maladie est caractérisée par le développement et l'expansion de kystes à partir du tubule rénal. Typiquement, l'évolution vers l'insuffisance rénale terminale est variable, en général autour de la soixantaine, elle s'accompagne d'une hypertension artérielle et se complique dans 8% des cas d'anévrismes intracrâniens. Le premier gène responsable de la maladie, *PKD1*, localisé en 16p13.3, a été identifié il y a 21 ans par un clonage positionnel et le second, *PKD2*, deux ans plus tard sur le chromosome 4 en 4q21. Il n'y a pas à ce jour de preuve formelle de l'existence d'un autre gène responsable. *PKD1* code pour la polycystine 1 (PC1) qui est un récepteur membranaire et *PKD2* code pour la polycystine 2 qui est un canal calcium dépendant. Ces deux protéines interagissent pour réguler la concentration du calcium intracellulaire.

L'analyse des mutations du gène *PKD1* a été difficile car le gène est riche en GC, comprend 46 exons et présente, sur les ¾ de sa séquence, 98% d'homologies avec 6 pseudogènes. Néanmoins, nous avons pu par des approches combinées de PCR de grands fragments et de séquençage Sanger, et plus récemment par une approche NGS, analyser la totalité du gène, complétée par une recherche des grands réarrangements (Audrézet et al 2012)(Audrézet et al JASN 2015). La très grande diversité allélique est illustrée par plus de 1200 mutations différentes de *PKD1* et 200 mutations de *PKD2*, 350 d'entre elles ayant été mises en évidence pour la première fois dans notre laboratoire.

Nous avons constitué une vaste cohorte de patients polykystiques provenant des centre de néphrologie de Bretagne et du grand ouest (Genkyst) et de patients venus de nombreux service de néphrologie du pays. L'analyse moléculaire de ces patients nous a permis de poser le diagnostic moléculaire de polykystose dans 90% des cas.

Nous avons pu montrer que non seulement le gène en cause, *PKD1* ou *PKD2* conduisait à une évolution vers l'insuffisance rénale terminale différente de 20 ans, mais que le type de mutations présentes dans le gène *PKD1* à savoir les mutations tronquantes conduisait plus précocement les patients vers l'insuffisance rénale terminale (Cornec-Legall et al JASN 2013) et que l'on pouvait, en intégrant les données cliniques et génétiques, proposer un score (proPKDscore) permettant de sélectionner les patients selon leur risque de survenue de l'insuffisance rénale terminale plus ou moins précoce (Cornec-Le Gall ;JASN,2015). Ces résultats sont importants à l'heure où les premiers traitements spécifiques de la maladie vont entrer en clinique.

La connaissance des bases moléculaires de la maladie, l'influence des facteurs géniques (*PKD1* versus *PKD2*) et allélique est aujourd'hui un pré requis indispensable à une prise en charge personnalisée des patients atteints de PKRAD.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #3279 : CHCHD10, ou comment un dysfonctionnement mitochondrial conduit à une maladie du motoneurone

#### Auteurs :

Sylvie BANNWARTH (1), Emmanuelle C GENIN (2), Morgane PLUTINO (2), Elodie VILLA (3), Eugenia CISNEROS-BARROSO (4), Madhuparna ROY (5), Bernardo ORTEGA-VILA (4), Konstantina FRAGAKI (1), Françoise LESPINASSE (2), Estefania PINERO-MARTOS (4), Gaëlle AUGÉ (1), David MOORE (6), Florence BURTE (6), Sandra LACAS-GERVAIS (7), Yusuke KAGEYAMA (8), Patrick YU-WAI-MAN (6), Hiromi SESAKI (5), Jean-Ehrland RICCI (3), Cristofol VIVES-BAUZA (4), Véronique PAQUIS-FLUCKLINGER (1)

1. Service de Génétique Médicale, CHU Nice, Nice, France
2. IRCAN, Université de Nice Sophia-Antipolis, Nice, France
3. INSERM U1065, Université de Nice Sophia-Antipolis, Nice, France
4. Research Health Institute of Palma, University hospital Spain, Palma, Espagne
5. Department of cell biology, Johns Hopkins University School of Medicine, Baltimore, Etats-Unis
6. Wellcome trust Centre for Mitochondrial Research, Newcastle University, Newcastle, Royaume Uni
7. Joint Center for Applied electron microscopy, Université de Nice Sophia-Antipolis, Nice, France
8. Wellcome trust Centre for Mitochondrial Research, Johns Hopkins University School of Medicine, Baltimore, Etats-Unis

**Mots clefs :** CHCHD10, mitochondries, maladies neurodégénératives, maladies mitochondriales

#### Résumé :

Par séquençage d'exome réalisé à partir d'une grande famille présentant un phénotype complexe d'atteinte du motoneurone, de démence fronto-temporale, d'ataxie cérébelleuse et de myopathie mitochondriale avec délétions multiples de l'ADN mitochondrial (ADNmt) dans le muscle, nous avons récemment identifié *CHCHD10* comme un nouveau gène responsable de pathologie mitochondriale avec instabilité de l'ADNmt. Dans l'année qui a suivi, de nombreuses équipes et nous-même avons identifié d'autres mutations de *CHCHD10* dans des cohortes de patients avec Démence Fronto-Temporal/Sclérose Latérale Amyotrophique (DFT-SLA), SLA pure sporadique ou familiale, amyotrophie spinale de type Jokela ou maladie de Charcot Marie Tooth 2A. L'ensemble de ces études fait de *CHCHD10* un nouveau gène responsable du spectre clinique de DFT-SLA et démontre pour la première fois qu'un dysfonctionnement mitochondrial peut être à l'origine de la mort des motoneurones.

Dans cette étude, nous montrons que *CHCHD10* est un nouveau composant du complexe MICOS ("Mitochondrial Contact site and cristae Organizing System"), situé dans la membrane interne des mitochondries et responsable du maintien de l'architecture des crêtes mitochondriales. Dans les fibroblastes de patients avec mutation *CHCHD10*, nous observons un désassemblage du complexe MICOS qui entraîne une perte de la structure des crêtes mitochondriales. Nous montrons également que ces anomalies de la membrane interne mitochondriale sont responsables d'une désorganisation des nucléoïdes (complexe ADNmt/protéines) qui conduit à un défaut de la réparation de l'ADNmt après stress oxydatif, pouvant expliquer les délétions multiples de l'ADNmt observées dans le muscle des patients. De manière surprenante, l'expression d'un allèle *CHCHD10* muté protège contre l'apoptose en diminuant le relarguage du cytochrome *c*. Ce résultat conforte des études précédentes qui suggéraient que, dans certains modèles de SLA, la mort des motoneurones pouvait se produire via un mécanisme d'apoptose indépendant des caspases (E.C. Genin, EMBO Mol. Med., en révision).

*CHCHD10* est le premier gène, codant pour une protéine du complexe MICOS, impliqué dans une pathologie humaine. Ce travail prouve qu'un dysfonctionnement mitochondrial peut être à l'origine d'un large spectre de maladies neurodégénératives.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #3280 : Implication des facteurs génétiques dans la survenue et la protection vis-à-vis des pancréatites chroniques alcooliques

#### Auteurs :

Amandine Abrantes (1), Emmanuelle Masson (1), Michel Robaszekiewicz (2), J-M. Chen (1), Claude Férec (1)

1. Laboratoire de Génétique Moléculaire et d'Histocompatibilité, CHRU Brest, Hopital Morvan, Brest, France
2. Service de Hépatogastroentérologie, CHRU Brest, Hôpital de la Cavale Blanche, Brest, France

**Mots clefs :** pancréatite chronique alcoolique, facteurs génétiques, CLDN2, SPINK1, PRSS2,

#### Résumé :

Dans les pays occidentaux, l'abus d'alcool est la principale étiologie des pancréatites chroniques (PC), représentant 70 % à 80 % des cas. Cependant, moins de 10 % des buveurs excessifs développeront une PC. Plusieurs études ont été menées depuis quelques années afin de rechercher une implication génétique, notamment concernant les gènes *PRSS1*, *PRSS2*, *SPINK1*, *CTRC*, *CFTR*, *CASR*, *CPA1* et plus récemment *CLDN2*, *CEL*, *ABO* et *FUT-2*. L'objectif de ce travail est de rechercher si des facteurs génétiques peuvent être soit protecteur vis à vis de l'évolution vers la PC chez des sujets alcooliques ou au contraire si des facteurs génétiques peuvent favoriser l'évolution vers la PC chez une partie de ces patients alcooliques.

Une étude cas-témoin, multicentrique et prospective a été réalisée. La cohorte des cas est composée de 40 sujets alcooliques sévères ayant eu une consommation d'alcool supérieure à 80 g/jr pendant au moins 5 ans et atteints d'une PC. La cohorte des témoins est constituée de 76 sujets alcooliques sévères ayant les mêmes critères de consommation d'alcool mais exempts de PC. Le génotypage de *PRSS1*, *PRSS2*, *CLDN2*, *ABO* et *FUT-2* a été réalisé par la méthode High Resolution Melting (HRM). La recherche de variants de *PRSS1*, *PRSS2*, *SPINK1*, *CTRC*, *CFTR*, *CASR* et *CPA1* a été réalisée par la méthode New Generation Sequencing (NGS). Tous les variants identifiés par ces techniques ont été confirmés par séquençage.

Le Single Nucleotide Polymorphism (SNP) Rs10273639 (*PRSS1*) est retrouvé plus fréquemment chez les témoins alcooliques de façon significative (OR=0,12 ; IC<sub>95%</sub>=[0,04-0,42] ; p < 0,0001). Le SNP Rs12688220 (*CLDN2*) est associé significativement à la PCA (OR=2,83 ; IC<sub>95%</sub>=[1,08-7,49] ; p < 0,05) ainsi que le SNP Rs7057398 (OR=2,45 ; IC<sub>95%</sub>=[0,96-6,27] ; p < 0,05). Le variant p.G191R (*PRSS2*) à l'état hétérozygote a été identifié uniquement chez les témoins, 5 sujets parmi les 76 étudiés (6,58 %). La mutation p.N34S (*SPINK1*) a été identifiée uniquement chez 3 cas à l'état hétérozygote (7,5 % des cas, p < 0,05). Concernant le SNP Rs8176693 (*ABO*) et le SNP Rs632111 (*FUT2*), il n'existe aucune différence significative entre les cas et les témoins. Il en est de même après l'étude de *CFTR*, *CTRC*, *CASR* et *CPA1*.

Cette étude nous a déjà permis de mettre en évidence un effet protecteur du SNP Rs10273639 (*PRSS1*) chez les témoins, ainsi que du variant p.G191R (*PRSS2*). Les SNP Rs12688220 et Rs7057398 (*CLDN2*) semblent être associés à la PCA de même que la mutation p.N34S (*SPINK1*). Enfin, nous n'avons pas mis en évidence de différence entre les deux groupes pour le gène *ABO* et *FUT2* alors qu'une étude récente l'a montrée. Les inclusions de cas et témoins se poursuivent afin de confirmer nos résultats. A terme, la mise en évidence de gènes de susceptibilité et de protection dans la PCA permettrait une meilleure connaissance étiopathogénique de la maladie. L'identification des sujets à risques et leur prise en charge thérapeutique en seraient améliorées.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #3287 : Une approche NGS à visée diagnostique pour les anomalies du développement de la crête neurale : la puce Crestine

#### Auteurs :

Sylvain Poisson (1), Sylvain Hanein (2), Christine Bole (3), Patrick Nitschké (4), Cécile Fourrage (1), Sandrine Marlin (5), Véronique Abadie (6), Marie-Paule Vazquez (7), Eréa-Noël Garabedian (8), Damien Bonnet (9), Sabine Sarnacki (10), Arnold Munnich (11), Tania Attié-Bitach (12), Stanislas Lyonnet (11), Jean-Paul Bonnefont (1), Jeanne Amiel (11), Véronique Pingault (1)

1. Laboratoire de Génétique moléculaire, Hôpital Necker, Paris, France
2. Equipe de Génétique translationnelle, Institut Imagine, Paris, France
3. Plateforme de Génomique, Institut Imagine, Paris, France
4. Plateforme de Bioinformatique, Institut Imagine, Paris, France
5. Centre de référence Surdités génétiques, Hôpital Necker, Paris, France
6. Centre de référence Syndromes de Pierre Robin et troubles de succion/déglutition congénitaux, Hôpital Necker, Paris, France
7. Centre de référence des Malformations rares de la face et de la cavité buccale, Hôpital Necker, Paris, France
8. Centre de référence des malformations ORL rares, Hôpital Necker, Paris, France
9. Centre de référence des Malformations cardiaques congénitales complexes, Hôpital Necker, Paris, France
10. Centre de référence Malformations anorectales et pelviennes, Hôpital Necker, Paris, France
11. Service de génétique, Hôpital Necker, Paris, France
12. Laboratoire d'embryologie moléculaire, Hôpital Necker, Paris, France

**Mots clefs :** Crête neurale, Maladies du développement, Next generation sequencing, Diagnostic

#### Résumé :

##### Introduction :

Les malformations résultant d'une anomalie de migration, différenciation ou survie des lignages ou tissus dérivés des crêtes neurales sont classées sous le terme générique de Neurocristopathies simples ou complexes. Compte tenu de la demande de plusieurs centres de référence prenant en charge ces patients sur l'hôpital Necker (surdités génétiques, séquence de Pierre Robin, malformations rares de la face et de la cavité buccale, malformations ORL rares, M3C, MAREP), du nombre de patients suivis et de l'expressivité variable d'un grand nombre de ces pathologies, nous avons développé un test de diagnostic moléculaire haut débit dédié aux neurocristopathies.

##### Méthodes :

Nous avons mis en place un outil de séquençage haut débit à visée diagnostique pour 71 gènes impliqués dans les pathologies malformatives de la crête neurale, représentant un total de 122 kb. Ce panel, appelé Crestine (MCNv1, pour Malformations Crêtes Neurales), est basé sur une capture par hybridation (Targeted-NGS (SureSelect, Agilent)) suivi d'un séquençage sur HiSeq2500 (Illumina), avec participation des plateformes génomiques et Bioinformatiques de l'institut Imagine. Les 71 gènes ont été répartis en 8 sous-panels pour cibler l'analyse : 1) syndrome CHARGE, MFDM et syndromes avec atrésie des choanes ; 2) dysplasie mandibulo-faciale ; 3) syndrome auriculo-condyloire ; 4) syndromes malformatifs avec fente palatine ; 5) syndromes malformatifs avec fente labio-palatine ; 6) syndrome de Waardenburg ; 7) maladie de Hirschsprung isolée et syndromique ; 8) cardiopathies conotruncales. Certains gènes sont inclus dans deux sous-panels.

##### Résultats :

La profondeur moyenne de lecture est supérieure à 300X. Seuls deux exons ne sont pas couverts du fait de leur extrême richesse en GC et nécessiteront un séquençage par méthode Sanger lorsque c'est indiqué. Seize contrôles, choisis pour représenter différents types de mutations connues (SNV induisant des mutations faux-sens, non-sens, ou d'épissage ; petites insertions ou délétions, indels, une délétion de 19pb, insertions ou délétions de repeats, ainsi qu'une délétion complète d'un gène et une délétion de quatre exons consécutifs), dans différents gènes, et avec différents statuts (hétérozygote, homozygote, hétérozygote composite), ont montré 100% de détection. 90 patients ont été séquençés en deux séries indépendantes, et un ou deux sous-panels analysés pour chaque échantillon selon l'indication clinique. Les résultats de ces deux séries seront présentés.

##### Conclusion :

Cette approche par sous-panel, basée sur les expertises des centres de référence, réduit le nombre de résultats incertains ou fortuits ainsi que le coût de facturation et permet de concentrer l'analyse sur les gènes appropriés.

#3290 : NGS: une nouvelle stratégie pour le diagnostic moléculaire des alpha-dystroglycanopathies.

### Auteurs :

Céline Bouchet Seraphin (1), Malika Chelbi (2), Marion Reocreux (2), Steven Gazal (3), Sandrine Vuillaumier Barrot (4), Catherine Boileau (2), Nathalie Seta (5)

1. Department of Biochemistry, APHP - Hôpital Bichat Claude Bernard, Paris, France
2. Department of Genetics, APHP - Hôpital Bichat Claude Bernard, Paris, France
3. Plateforme de Génétique constitutionnelle-Nord et , Inserm UMR 1137, Paris, France
4. Department of Biochemistry, APHP - Hôpital Bichat Claude Bernard, Paris, France
5. Department of Biochemistry, APHP - Hôpital Bichat Claude Bernard, Paris, France

**Mots clefs :** NGS, alpha-dystroglycanopathie, wws, lissencephaly type II, LGMD, DMC, FKRP, POMT1

### Résumé :

alpha-Dystroglycanopathies (alpha-DGpathies) are a group of rare inherited neuromuscular disorders characterized by modified glycosylation of  $\alpha$ -dystroglycan. Up to now mutations in 16 genes mostly with direct link to glycosylation pathway have been identified in patients with alpha-DGpathies. Due to an extremely broad clinical spectrum (from type II lissencephaly-LIS II, to Congenital Muscular Dystrophy-CMD and Limb Girdle Muscular Dystrophy-LGMD) and relatively poor phenotype-genotype correlation, molecular diagnosis of alpha-DGpathies is difficult and requires searching for mutations gene by gene. Therefore, alpha-DGpathies are good candidate for NGS strategy based on a glycosylation gene panel that we applied designing a panel comprising the 16 known genes in alpha-DGpathies and 29 other genes involved in glycosylation and Congenital Disorders of Glycosylation (CDG).

We first validated our panel design by assessing DNA from patients with known mutations previously identified by Sanger sequencing in genes involved in alpha-DGpathies. Then, DNA from 23 new cases, 11 LIS II fetuses + 12 patients with CMD or LGMD, were tested, leading to the identification of mutations in 8 different genes. All mutations were confirmed by Sanger sequencing.

Out of the 23 cases, a molecular diagnosis was established for 8 LIS II fetuses (72%) and 4 patients with DMC or LGMD (33%) with identified mutations in one of the 16 alpha-DGpathy known genes. In another patient with LGMD, a heterozygous ins-del mutation was identified in *SLC35A2* (*Chr X*) which is usually associated with another type of glycosylation linked to CDG. This gene encoding for UDP-galactose transporter could be involved in glycosylation of  $\alpha$ -dystroglycan. Complementary studies to confirm link between mutation and pathology are in progress.

Considering the possibility of an inadequate coverage of a few regions in the remaining undiagnosed cases, the 16 alpha-DGpathy genes were analyzed by Sanger sequencing without identifying any mutations. Therefore the efficacy of mutation identification was comparable between NGS and Sanger sequencing. The only limit of our NGS panel is the low coverage of the region of the frequent *FKRP* mutation: c.826C>A, p.Leu276Ile. So, for LGMD patients without identified *FKRP* mutation, Sanger sequencing of this region should be systematically performed.

Thanks to this new technology, assessing in one single step all the genes linked to  $\alpha$ -DGpathies leads to a gain of several months in the establishment of molecular diagnosis which benefits the families waiting for prenatal diagnosis. In addition, the design of our panel allows screening in parallel other glycosylation genes potentially involved in alpha-DGpathies.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

**#3291 : Effet fondateur dans la polykystose rénale autosomique dominante. Estimation de l'âge d'apparition d'une mutation fréquente du gène PKD2 dans des familles originaires de Bretagne**

### Auteurs :

Marie Pierre AUDREZET (1), Karen ROUAULT (2), Emmanuelle GENIN (2), Sandrine MAESTRI (2), Régine PERRICHOT (3), Yannick LE MEUR (4), Emilie CORNEC-LE GALL (4), Claude FEREC (1)

1. Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHRU BREST, BREST, France
2. Génétique, INSERM U1078, BREST, France
3. Néphrologie, CH BRETAGNE ATLANTIQUE VANNES, BREST, France
4. Néphrologie, CHRU BREST, BREST, France

**Mots clefs :** PKRAD, effet fondateur, datation

### Résumé :

**Introduction :** La Polykystose rénale autosomique dominante (PKRAD) est une maladie génétique de transmission monogénique fréquente, puisqu'elle touche environ 1 personne sur 1000 et est responsable de 7 % des causes d'insuffisance rénale terminale chez l'adulte.

La maladie se caractérise par une variabilité génétique, avec deux gènes impliqués : le gène *PKD1*, responsable de 85 % des cas, localisé en 16p13.3, codant la polycystine 1 et le gène *PKD2*, responsable de 15 % des cas, localisé en 4q21, codant la polycystine 2.

Plus de 1200 mutations ont été décrites dans le gène *PKD1* et environ 200 dans le gène *PKD2*, la très grande majorité d'entre elles étant des mutations privées.

L'étude de ces gènes sur une cohorte de plus de 1500 patients originaires de l'Ouest de la France (GenKyst) a cependant conduit à l'identification d'une grande délétion de 28 kb, emportant les exons 10 à 15 du gène *PKD2* (g.88983145\_g.89011203), fréquemment retrouvée dans une aire géographique restreinte (Pays de Vannes).

L'objectif de ce travail a été d'estimer l'âge d'apparition de cette mutation dans la population de patients atteints de polykystose rénale autosomique dominante.

**Patients et méthodes :** La population d'étude est constituée de 46 patients issus de 29 familles, porteurs de la mutation PKD2del10-15 et de 46 témoins originaires de la même zone géographique.

Un total de 11 marqueurs microsatellites ont été sélectionnés autour du gène *PKD2*, dans une région de 80 Mb délimitée par les marqueurs D4S405 et D4S402, et génotypés sur l'ensemble de la population d'étude. La reconstruction haplotypique a été réalisée selon la méthode de parcimonie pour 29 patients (1 par famille) et les fréquences alléliques des marqueurs dans la population locale ont été déterminées à partir des données obtenues pour les 46 témoins. L'âge (en générations) du dernier ancêtre commun des patients porteurs de la mutation PKD2del10-15 a ensuite été estimé à l'aide du programme Estiage. Ce programme est basé sur une méthode de vraisemblance qui suppose que tous les individus porteurs de la même mutation descendent d'un ancêtre commun qui a introduit la mutation. Le nombre de générations est ainsi obtenu à partir de la taille de l'haplotype commun partagé par tous les patients.

**Résultats :** Le génotypage des marqueurs microsatellites encadrant le gène *PKD2* a révélé 21 haplotypes différents sur les 7 marqueurs (D4S392-D4S2964-D4S395-D4S1534-Mut-D4S414-D4S423-D4S1572) couvrant plus de 33 Mb. L'haplotype restreint le plus fréquent (96-128-142-150-Mut-238-127-200) est partagé par 5 patients. Ces données ont permis d'estimer l'âge d'apparition de la mutation PKD2del10-15 à 8 générations (IC 95 % : 6-11). Si l'on se base sur une moyenne de 25 ans par génération, cette mutation aurait été introduite dans la population il y a environ 200 ans (IC 95 % : 150-275).

**Conclusion :** Cette étude rapporte pour la première fois un effet fondateur dans une maladie aussi fréquente que la PKRAD.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

**#3293 : Déficiences de la réparation de l'ADN par excision de nucléotides: analyse clinique et moléculaire d'une cohorte de 143 patients atteints de syndrome de Cockayne et identification de nouvelles formes cliniques par séquençage à haut débit**

### Auteurs :

Nadège CALMELS (1), Marie-Aude SPITZ (2), Géraldine GREFF (1), Nadine KEMPF (1), Saméa SAMIMI (1), Cathy OBRINGER (3), Claire GASNIER (1), Julien TARABEUX (1), Marguerite MIGUET (1), Laura MARY (1), Boris KEREN (4), Christel DEPIENNE (4), Jean MULLER (5), Jean-Louis MANDEL (1), Vincent LAUGEL (2)

1. Laboratoire de Diagnostic Génétique, Hôpitaux universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
2. Service de Pédiatrie et Laboratoire de Génétique médicale, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg et Faculté de médecine de Strasbourg, Strasbourg, France
3. Laboratoire de Génétique Médicale, Faculté de médecine de Strasbourg, Strasbourg, France
4. Département de Génétique et UM 75, U 1127, UMR 7225, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière et Institut du Cerveau et de la Moelle Epinière, Paris, France
5. Laboratoire de Diagnostic Génétique et Laboratoire de Génétique Médicale, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg et Faculté de médecine de Strasbourg, Strasbourg, France

**Mots clefs :** Cockayne, xeroderma pigmentosum, NER, NGS

### Résumé :

La voie de réparation de l'ADN par excision de nucléotides (NER), dont le décryptage par A. Sancar a fait l'objet de l'un des prix Nobel de chimie 2015, permet aux cellules de réparer les dommages faits par les UV à l'ADN. Les pertes de fonction des gènes impliqués dans cette voie sont à l'origine de diverses pathologies génétiques autosomiques récessives telles que le *xeroderma pigmentosum* (XP), maladie de prédisposition aux cancers cutanés, et le syndrome de Cockayne (CS), maladie multi-systémique progressive rare et sévère, associant retard de croissance, microcéphalie, retard psychomoteur, atteinte sensorielle et photosensibilité cutanée.

Nous avons développé depuis une dizaine d'années plusieurs techniques de confirmation diagnostique du syndrome de Cockayne par des méthodes cellulaires et moléculaires. Compte tenu du chevauchement clinique des pathologies de la voie NER, de l'existence de formes combinées et du nombre relativement important de gènes impliqués, nous avons récemment mis au point une approche de séquençage haut débit ciblée sur 16 gènes de cette voie (enrichissement par PCR multiplex d'une région cible de 62kb, séquençage sur PGM ion Torrent) et l'avons à ce jour appliquée à une cohorte de 40 patients.

Nous avons identifié les mutations causales chez 17 des 40 patients testés par séquençage haut débit (43%). Parmi eux, 9 patients sont mutés dans l'un des deux gènes classiquement impliqués dans le syndrome de Cockayne, *ERCC6(CSB)* ou *ERCC8(CSA)*. Tandis que la majorité de ces patients (7/9) présente les signes cliniques classiques de la pathologie, deux patients liés à *ERCC8(CSA)* ont une clinique incomplète et plus modérée, jusqu'ici non décrite. L'étude d'une petite cohorte de 4 patients XP issus du pays basque espagnol a permis d'identifier une mutation fondatrice dans le gène *POLH*, déjà connu comme responsable de la forme variante de XP (XP-variant). Enfin, cette approche a révélé des diagnostics inattendus chez 4 patients suspects de syndrome de Cockayne ou de sa forme la plus bénigne, le syndrome UV-sensible : ces patients se sont révélés être atteints de formes incomplètes ou combinées XP/CS et sont porteurs de mutations pathogènes dans des gènes XP, fréquemment impliqué tel *ERCC2(XPD)* ou bien plus rarement tels *ERCC5(XPG)* ou *ERCC3(XPB)* (9 patients décrits à ce jour dans la littérature pour ce dernier). Au total, nous avons pu confirmer le diagnostic de syndrome de Cockayne ou apparenté chez 143 patients, dont nous présenterons une synthèse des analyses cliniques et moléculaires.

En conclusion, cette large cohorte permet de préciser les critères diagnostiques et l'histoire naturelle du syndrome de Cockayne. La stratégie de séquençage haut débit ciblé permet un diagnostic plus rapide des pathologies de la voie NER et facilite tout particulièrement l'identification des formes cliniques combinées ou incomplètes, en élargissant le spectre clinique de ces maladies rares, mal connues et sous-diagnostiquées.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

**#3296 : Identification par séquençage haut débit d'une nouvelle mutation de novo de l'ADNmt, m.15958A>T (ARNt<sup>Pro</sup>), responsable d'une forme pédiatrique de myopathie mitochondriale**

### Auteurs :

Godelieve MOREL (1), Sylvie BANNWARTH (1), Annabelle CHAUSSENOT (1), Aline CANO (2), Cécile ROUZIER (1), Gaëlle AUGÉ (1), Brigitte CHABROL (2), Véronique PAQUIS-FLUCKLINGER (3)

1. service de Génétique Médicale, Hôpital de l'Archet 2, CHU de Nice, Nice, France
2. service de Neuropédiatrie, Hôpital de la Timone, CHU de Marseille, Marseille, France
3. service de Génétique Médicale, Hôpital de l'Archet 2, CHU de Nice, France, NICE, France

**Mots clefs :** myopathie mitochondriale, ADN mitochondrial, nouvelle mutation, fibres ragged-red, NGS, ARNt<sup>Pro</sup>

### Résumé :

Jusqu'à présent, l'identification des anomalies de l'ADN mitochondrial (ADNmt) consistait à rechercher sur une biopsie tissulaire la présence d'une délétion ou de mutations communes, pouvant expliquer 5 à 40% des maladies mitochondriales selon les cohortes. Dans un second temps, la recherche de mutations rares nécessitait l'utilisation couplée des techniques Surveyor et Mitochips.

Nous rapportons une nouvelle mutation de l'ADNmt, identifiée par séquençage haut débit (NGS), chez un garçon de 11 ans présentant une myopathie mitochondriale. Après un développement initial normal, cet enfant a développé, à l'âge de 4 ans, une intolérance à l'effort et des myalgies, associées à un discret retard staturopondéral et des troubles de l'apprentissage. A l'âge de 9 ans, il a présenté une majoration de l'intolérance à l'effort, avec apparition d'une dysarthrie et d'un ptosis droit à l'effort et, de la cassure de la croissance staturopondérale (-3DS). Le taux de lactates était élevé (5.3 mmol/L). L'ensemble du bilan ne retrouvait pas d'autre atteinte systémique, notamment sur l'IRM cérébrale et l'échographie cardiaque. Il n'y a pas d'antécédent familial, et il a un frère en bonne santé.

Les explorations réalisées sur la biopsie de muscle confirmaient la suspicion de myopathie mitochondriale. L'analyse histologique montrait 60% de fibres ragged-red et 90% de fibres COX négatives. L'étude de la chaîne respiratoire par spectrophotométrie retrouvait une activité à la limite inférieure de la normale de tous les complexes, à l'exception du complexe II. Par qPCR, on retrouvait une augmentation du nombre de copies de l'ADNmt (202%) pouvant expliquer l'absence de déficit net de la chaîne respiratoire. Après avoir éliminé une délétion de l'ADNmt, l'étude par NGS a permis l'identification du variant m.15958A > T dans le gène *MT-TP* codant pour l'ARN de transfert proline (ARNt<sup>Pro</sup>), non retrouvé dans la littérature et les bases de données. Cette mutation affecte un nucléotide très conservé à travers les espèces et est située sur le bras accepteur de l'ARNt<sup>Pro</sup> en position 71. L'étude du taux d'hétéroplasmie par QMPFSF était en faveur de la pathogénicité de ce variant (muscle 94%, urines 78%, sang 9%, frottis buccal 0%) et de son caractère *de novo* puisqu'il n'a pas été retrouvé dans les différents tissus de la mère (urines, sang et frottis buccal). La détermination du taux d'hétéroplasmie sur fibres musculaires isolées est en cours.

D'autres mutations du gène *MT-TP* ont déjà été décrites dans des formes de myopathies mitochondriales de début infantile. Ce cas permet de souligner l'intérêt du NGS dans la stratégie diagnostique des maladies mitochondriales en permettant une analyse exhaustive rapide de l'ADNmt. Toutefois, des études complémentaires sont primordiales pour confirmer la pathogénicité des nouvelles mutations identifiées.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #3299 : Bilan préliminaire du Projet Myocapture à l'Hôpital Cochin : Grands Gènes Revisités, Phénotypes Cliniques Elargis et Nouveaux Gènes à Explorer ...

#### Auteurs :

France Leturcq (1), Juliette Nectoux (2), isabelle Nelson (3), Rabah BEN YAOU (3), Patrick Nitschke (4), Pascale Richard (5), Alix De Becdelievre (5), Jean-François Deleuze (6), Tanya Stojkovic (7), Anthony Behin (7), Pascal Laforet (7), Bruno Eymard (7), Valérie Allamand (3), Gisèle Bonne (8)

1. laboratoire de biochimie et génétique moléculaire , Hopital Cochin, Paris, France
2. laboratoire de biochimie et génétique moléculaire , Hopital Cochin, paris, France
3. , UPMC Université Paris 06, INSERM UMRS974, CNRS FRE3617, Institut de Myologie, Paris, France
4. BIP-D Plateforme de Bioinformatique , paris Descartes, Paris, France
5. U.F. Cardiogénétique et Myogénétique, service de Biochimie métabolique , Groupe Hospitalier Pitié Salpêtrière , Paris, France
6. Centre national de génotypage, , Evry, France
7. Centre de Référence de Pathologie Neuromusculaire, Groupe Hospitalier Pitié Salpêtrière , Paris, France
8. UPMC Université Paris 06, INSERM UMRS974, CNRS FRE3617, Institut de Myologie, Paris, France

**Mots clefs :** Myocapture, exome , Myopathies des ceintures

#### Résumé :

Elucider le diagnostic moléculaire des patients atteints de myopathies est un défi quotidien pour les laboratoires confrontés au nombre toujours plus important de gènes impliqués dans ces pathologies, dont l'hétérogénéité clinique et génétique est évidente. Le projet Myocapture de séquençage d'exomes, associant dans un consortium national à la fois des laboratoires de diagnostic anatomopathologique et moléculaire, des équipes expertes en génétique et en maladies neuromusculaires, des banques de cellules et de tissus, le Centre National de Génotypage et le réseau de cliniciens des Centres de Référence est une initiative mise en place pour tenter de dénouer ces difficultés, et identifier de nouveaux gènes impliqués dans les myopathies non étiquetées

Notre laboratoire s'est positionné dans ce projet en sélectionnant une cohorte de patients présentant un tableau de myopathie des ceintures, pour lesquels l'analyse des gènes connus, étudiés par NGS sur un panel de « routine », avait permis d'éliminer leur implication. Les dossiers cliniques de ces patients, tout comme les données d'histologie, d'immunohistochimie et/ou Western blot, d'imagerie et d'électromyographie ont été repris et complétés. Une cohorte de 94 patients et apparentés répartis en trios appartenant à 26 familles a été sélectionnée, les ADN correspondant ont été analysés sur puce Agilent de capture avant d'être séquencés sur séquenceur Illumina HighSeq 2500. Des outils informatiques spécifiques « maison » (PolyWeb) ont été développés, s'appuyant sur l'utilisation de filtres permettant d'identifier des variants dont le caractère pathogène a pu être classé en i) certain car impliquant des gènes connus mais mal ou insuffisamment étudiés dans le premier screening de diagnostic (42%), ii) potentiellement délétère touchant des gènes responsables d'atteinte musculaire mais associés à des phénotypes inhabituels (15%), iii) possible par le type de ségrégation familiale et l'expression tissulaire (8%). Aucune « piste moléculaire » n'a pu être mise en évidence chez seulement 1/3 des patients.

Ce projet Myocapture fédérant des laboratoires sur des groupes de pathologies différentes mais toutes impliquées en pathologie musculaire, associant des cliniciens experts et garants d'une définition de cohortes homogènes de patients, est un outil remarquable pour élargir le spectre moléculaire de ces maladies, affiner la sémiologie et découvrir le rôle de nouveaux gènes ....

Ce travail a été soutenu par la structure nationale France Génomique dans le cadre du programme « Investissement d'Avenir » financé par l'Agence nationale pour la Recherche ( contrat ANR-10-INBS-09)

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #3308 : Diagnostic moléculaire par séquençage haut débit de patients atteints de rétinite pigmentaire autosomique récessive

#### Auteurs :

Béatrice BOCQUET (1), Corinne BAUDOIN (2), Thibault FESQUET (2), Gaël MANES (1), Robin RULLAUD (1), Isabelle MEUNIER (2), Christian HAMEL (2)

1. INSERM U1051 - Institut des Neurosciences de Montpellier, , MONTPELLIER, France
2. Centre National de Référence Maladies Rares Maolya, , MONTPELLIER, France

**Mots clefs :** Maladies monogéniques, Rétinites pigmentaires autosomiques récessives, Séquençage MIP (Molecular Inversion Probe)

#### Résumé :

**Propos :** Le diagnostic moléculaire des Rétinites Pigmentaires (RP) autosomiques récessives (ar) est à l'heure actuelle un challenge en raison de la grande hétérogénéité moléculaire de cette forme génétique : 55 gènes et 3 loci ont déjà été identifiés, expliquant environ 60 % des cas d'arRP. Deux gènes majeurs, *USH2A* and *EYS*, sont ensemble responsables de 13 à 19 % des cas. Grâce au Consortium Européen de Recherche sur les Dystrophies Rétiniennes (ERDC) nous avons évalué la prévalence des gènes connus dans les arRPs.

**Méthodes :** Les exons de tous les gènes décrits dans la base de données RetNet (<https://sph.uth.edu/retnet/>) ont été séquençés par MIP chez 188 probands de familles arRP ou de cas simplex. Les variants obtenus après filtre bioinformatique ont été recherchés dans les bases de données publiques HGMD, dbSNP, EVS ou EXAC et la pathogénicité des changements d'acides aminés testée grâce aux logiciels PolyPhen-2, SIFT, Mutation taster et aGVGD. Les mutations sont ensuite vérifiées par séquençage Sanger et une analyse familiale est effectuée si les ADN des apparentés sont disponibles.

**Résultats :** Sur les 188 patients testés, 145 (77%) présentent une ou plusieurs mutations dans les gènes connus. Sur ces 145 patients, 3 hommes présentent une mutation déjà décrite dans des gènes de RP liée à l'X : *RPGR*, *RP2* et *CACNA1F*. De la même façon, 9 patients portent des mutations hétérozygotes de gènes responsables de RP dominantes autosomiques (*CRX*, *FSCN2*, *SNRNP200*, *PRPF31*, *PRPH2*, *RP1L1*). Sur les 176 patients ayant une arRP, 74% ont des mutations de gènes connus pour les arRPs dont 25% dans les gènes *USH2A* (19%) et *EYS* (6%).

**Conclusion:** Les gènes actuellement connus répondent dans notre cohorte française à 74% des arRPs. Nous confirmons la très forte prévalence des deux gènes *USH2A* et *EYS*. De plus, 6,4 % des patients de la cohorte initiale sont des formes dominantes autosomiques avec pénétrance variable (4,8 %) ou liées à l'X (1,6 %), ce qui doit inciter à la plus grande prudence pour le conseil génétique des formes sporadiques qui représentent 45 % des RPs. Les 45 patients n'ayant aucune mutation bénéficieront d'une analyse ultérieure par Whole Exome Sequencing.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #3309 : Retour d'expérience sur l'utilisation d'un panel NGS dans le diagnostic moléculaire des paraplégies spastiques héréditaires

#### Auteurs :

Guillaume Banneau (1), Laurène Tissier (1), Bophara Kol (1), Estelle Fedirko (1), Isabelle David (1), Laure Raymond (1), Pierre de la Grange (2), Olivier Ariste (3), Alexandra Durr (1), Giovanni Stevanin (4), Caroline Nava (1), Fabienne Clot (1), Cécile Cazeneuve (1), Eric Leguern (1)

1. Fédération de Génétique, CHU Pitié-Salpêtrière, Paris, France
2. GenoDiag, CHU Pitié-Salpêtrière, Paris, France
3. GenoDiag, CHU Pitié-Salpêtrière, Paris, France
4. Centre de Recherche de l'Institut du Cerveau et de la Moelle épinière (INSERM/UPMC UMR\_S 975, CNRS 7225, NEB), Paris, France

**Mots clefs :** NGS, paraplégies spastiques, neurogénétiques

#### Résumé :

Les paraplégies spastiques héréditaires sont des maladies neurologiques rares, phénotypiquement et génétiquement hétérogènes, avec une prévalence estimée à 5/100 000 hab. en Europe. Ces pathologies se caractérisent principalement par la présence d'un syndrome pyramidal progressif et d'une spasticité des membres inférieurs dans les formes « pures », les formes « complexes » étant associées de façon variable à un ou plusieurs signes neurologiques ou extraneurologiques. L'âge de début est variable et peut être hétérogène dans une même famille, de même que la pénétrance. En plus d'une grande hétérogénéité clinique, ces pathologies sont également caractérisées par une diversité des modes de transmission (autosomique dominant ou récessif, lié à l'X, mitochondrial) et des gènes impliqués. A ce jour, des mutations ont été décrites dans plus d'une soixantaine de gènes. Les corrélations génotype-phénotype n'étant pas toujours évidentes, le diagnostic génétique conventionnel est long et coûteux. Nous avons récemment développé une stratégie de séquençage ciblé moyen débit permettant l'étude simultanée de 65 gènes. Cette analyse NGS est basée sur l'utilisation d'une double capture Nimblegen associée au séquençage sur MiSEQ. L'analyse bioinformatique utilise quant à elle un pipeline développé en partenariat avec la société GenoDiag, permettant l'annotation des variants de type snv, indels et CNV (avec une sensibilité moins importante pour ces derniers). Une étape de validation de méthode a été réalisée afin de contrôler la sensibilité de la technique et la reproductibilité des résultats, basée sur l'analyse de 96 patients (témoin positif, témoin négatif et duplicates). Depuis la mise en pratique routinière de cette analyse, plus de 160 patients ont pu bénéficier de cette nouvelle analyse dans le cadre d'un diagnostic moléculaire de paraplégie spastique. Les premiers résultats obtenus permettent de montrer une répartition des patients après analyse en trois populations distinctes : i) 25% des patients pour lesquels la mutation causale a pu être identifiée ; ii) 25% des patients pour lesquels un ou plusieurs variant(s) potentiellement pathogène(s) a(ont) pu être identifié(s) et nécessite(nt) l'étude de la ségrégation dans la famille pour statuer définitivement ; iii) 50% des patients pour lesquels il n'a pu être mis en évidence la(es) mutation(s) causale(s) : ces patients ne présentent soit aucun variant clairement pathogène (VSI), soit un unique variant pathogène dans un ou des gène(s) de transmission récessive. Ce panel NGS a permis d'identifier des mutations dans les gènes les plus fréquemment mutés dans les paraplégies spastiques (*ATL1*, *SPAST*, *SPG11*), mais également dans des gènes avec peu de cas rapportés (*DDHD2/SPG54*, *MARS/SPG70*). Les premières analyses témoignent cependant de la grande difficulté de l'interprétation des résultats de manière générale, principalement caractérisée par un temps d'interprétation relativement long pour chaque patient.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #3310 : Diagnostic de la polykystose autosomique récessive (ARPKD) et de certaines néphropathies par NGS

#### Auteurs :

Laurence MICHEL-CALEMARD (1), Florence ROUCHER BOULEZ (1), Delphine MALLET-MOTAK (1), Aurélie BERTHOLET-THOMAS (2), Justine BACCHETTA (2), Bruno RANCHIN (2), Pierre COCHAT (2), Yves MOREL (1)

1. Endocrinologie Moléculaire et Maladies Rares, CBPE, Hospices Civils de Lyon, BRON, France
2. néphrologie pédiatrique, HFME, Hospices Civils de Lyon, BRON, France

**Mots clefs :** ARPKD, PKHD1, NGS, ciliopathies, HNF1B, mutations

#### Résumé :

Notre laboratoire réalise le diagnostic moléculaire de la polykystose hépatorénale autosomique récessive (ARPKD) par séquençage du gène *PKHD1* (67 exons) depuis sa découverte en 2002. Il est le laboratoire référent pour l'étude de *PKHD1* et a rassemblé une cohorte importante, essentiellement pédiatrique (plus de 330 patients mutés).

De plus en plus souvent, le diagnostic d'ARPKD est suspecté *in utero*, devant des gros reins hyperéchogènes et/ou un oligoamnios, posant la question d'une IMG.

Parallèlement, nous avons développé l'analyse du gène *HNF1B* en raison de son implication fréquente dans les reins fœtaux hyperéchogènes, réalisant ainsi un diagnostic différentiel d'ARPKD.

L'objectif principal, pour lequel nous avons reçu un financement sur 3 ans de l'association AIRG, était de remplacer le séquençage Sanger du gène *PKHD1* par la technologie NGS. L'objectif secondaire était de profiter de la puissance de l'outil en incluant l'analyse dans un même panel de plusieurs autres gènes impliqués dans des ciliopathies ou des polykystoses rénales.

Un panel Ampliseq™ a été désigné ciblant les gènes (exons ± 50 bp) : *PKHD1*, *HNF1B*, *NPHP1*, *INVS*, *NPHP3*, *NPHP4*, *IQCB1*, *CEP290*, *RPGRIP1L*, *SDCCAG8*, *TMEM67*, *BBS1*, *BBS2*, *MKKS*, *BBS7*, *TTC8*, *BBS9*, *BBS10*, *TRIM32*, *BBS12*, *UMOD*, *WT1*, *PAX2*, *PKD1* et *PKD2*.

Pour valider la méthode, 15 patients déjà séquencés en Sanger et porteurs seulement d'une mutation dans *PKHD1* ont été re-séquencés en NGS sur le Proton.

Pour les 15 patients, toutes les mutations et les SNPs ont été retrouvés. De plus, pour 1 patient, une deuxième mutation, qui avait échappé au Sanger (variant sous l'amorce), a pu être identifiée.

Depuis que le panel est validé nous réalisons une série NGS par mois regroupant l'étude de 16 patients sur une puce Proton. Les patients adressés pour analyse de *PKHD1* sont passés directement en NGS. L'analyse de l'ensemble des données obtenues nous montrant que l'étude de CNV n'est pas concluante, les patients adressés pour *HNF1B* ne sont passés qu'après exclusion d'une large lésion par MLPA.

Pour le gène *PKD1*, comme nous pouvions l'attendre, de nombreuses régions ne sont pas couvertes puisque celui-ci est riche en GC et a des pseudogènes.

L'analyse des gènes *PKHD1* et *HNF1B* par technique NGS est maintenant réalisée en routine en remplacement du Sanger dans notre service, avec une série par mois regroupant l'étude de 16 patients. Les variants potentiellement pathogènes sont vérifiés en Sanger. L'étude des autres gènes du panel permet de poser un diagnostic différentiel chez certains patients. Les problèmes posés sont l'impossibilité d'analyse des CNV, les génotypes incomplets et les variants de signification inconnue. Après *PKHD1*, le gène le plus fréquemment muté est *PKD1* mais les résultats incomplets ne nous permettent pas de proposer son analyse en routine.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #3311 : Détection par analyse comparative d'exomes de mutations de novo des gènes FAT1 et VARS2 chez une patiente atteinte d'un cancer du sein précoce

#### Auteurs :

Régine Marlin (1), Françoise Charbonnier (2), Jean Christophe Théry (2), Luc Morris (3), Sophie Coutant (2), Odile Béra (1), Timothy Chan (4), Thierry Frébourg (2), Isabelle Tournier (2)

1. Unité d'Oncogénétique et de Génétique Moléculaire des Cancer, Centre Hospitalier Universitaire de la Martinique, Fort-de-France, France
2. Inserm U1079, Université de Rouen et Service de Génétique, CHU de Rouen, Centre Normand de Génomique Médicale et Médecine Personnalisée, Rouen, France
3. Département d'Oncologie, Memorial Sloan-Kettering Cancer Center, New-York, Etats-Unis
4. Département d'Oncologie, Memorial Sloan-Kettering Cancer Center, New-York, France

**Mots clefs :** Séquençage haut-débit, exome, mutations de novo, cancer du sein.

#### Résumé :

En France, environ 48 000 nouveaux cas de cancer du sein sont diagnostiqués chaque année. Moins de 5 % de ces cancers correspondent à des formes Mendéliennes à transmission autosomique dominante liée le plus souvent à une altération génétique constitutionnelle des gènes *BRCA* et plus rarement de *TP53*. D'autres gènes sont impliqués dans les bases génétiques des cancers du sein comme *PTEN*, *STK11* et *PALB2* et l'implication d'autres gènes *CDH1*, *BAP1*, *ATM*, *BRIP1* et *CHEK2* reste à étayer. Néanmoins dans une fraction importante de situations évocatrices d'une prédisposition héréditaire, les analyses des gènes connus restent négatives ce qui suggère l'implication d'autres bases génétiques à caractériser. Compte tenu du taux de mutations *de novo* par exome dans l'espèce humaine, il est légitime de penser qu'une fraction de cancers précoces résulte de ce type de mutations. Nous avons étudié des cas sporadiques précoces de cancer du sein (inférieurs à 31 ans) selon la stratégie des exomes de trios, telle que nous l'avons développée pour les cancers de l'ovaire (*Tournier et al., Human Mutation 2014*). Chez une patiente ayant développé un carcinome canalaire sporadique à l'âge de 26 ans, nous avons effectué une analyse soustractive d'exomes de trio cas index/parents par séquençage de nouvelle génération sur plateforme Illumina et identifié deux variations *de novo* de type faux-sens, une mutation *FAT1* c.12218G > T et une mutation *VARS2* c.1291G > A. Ces deux mutations étaient absentes des bases de données « 1000 genomes project », « EVS » et « EXAC ». Le gène *FAT1*, membre de la famille des cadhérines, code pour un gène suppresseur de tumeurs et le gène *VARS2* pour la forme mitochondriale de la valine-tRNA synthétase. L'analyse fonctionnelle de la mutation *FAT1 in vitro* a montré que cette mutation altérait la fonction oncosuppressive de la protéine *FAT1*, suggérant sa contribution dans la survenue de ce cancer du sein précoce. En revanche, en raison de l'absence d'analyses fonctionnelles disponibles pour la protéine *VARS2*, il n'a pas été possible de déterminer l'impact biologique de l'autre mutation. Des études de récurrence sur 71 patientes ayant développé un cancer du sein avant l'âge de 26 ans n'ont pas permis de détecter des mutations, prédites comme étant délétères, sur ces 2 gènes. Ce travail souligne la difficulté d'interpréter les mutations détectées par analyse d'exome et l'inadéquation de l'exome pour le diagnostic de routine en oncogénétique. L'un des principaux défis est effectivement l'interprétation de ces variations, compte tenu du nombre de SNV rares de fréquence allélique inférieure à 0.1 %, estimé à environ 1000 par exome. Cette étude souligne néanmoins l'intérêt des analyses comparatives d'exomes de trio pour identifier, à partir de patients atteints de cancers particulièrement précoces et correspondant à des phénotypes extrêmes, des mutations *de novo* pouvant contribuer à l'oncogenèse.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #3326 : Etude d'une grande cohorte de patients atteints d'albinisme.

#### Auteurs :

Eulalie Lasseaux (1), Claudio Plaisant (1), Fanny Morice-Picard (2), Patricia Fergelot (1), Marie-Laure Vuillaume (1), Vincent Michaud (1), Aurélien Trimouille (1), Sylvie Deves (1), Caroline Rooryck-Thambo (1), Didier Lacombe (1), Alain Taieb (2), Benoit Arveiler (1)

1. Service de Génétique Médicale, CHU Bordeaux, Bordeaux, France
2. Service de Dermatologie Pédiatrique, CHU Bordeaux, Bordeaux, France

**Mots clefs :** albinisme cohorte

#### Résumé :

L'albinisme est une pathologie hétérogène d'un point de vue clinique et génétique caractérisée par un nystagmus, une hypoplasie de la fovéa et une baisse de l'acuité visuelle, associée à une hypopigmentation de la peau, des cheveux et des yeux. 18 gènes sont impliqués dans les différentes formes d'albinisme : oculo-cutané (AOC), oculaire (AO, FHONDA) et syndromiques (Hermansky-Pudlak, Chediak-Higashi). L'albinisme oculocutané (AOC) est une maladie autosomique récessive atteignant 1/17000 personnes et comportant une atteinte ophtalmologique avec nystagmus, hypopigmentation rétinienne, hypoplasie fovéale et baisse de l'acuité visuelle; l'hypopigmentation cutané-phanérienne est d'intensité variable. Six gènes (**TYR**, **OCA2**, **TYRP1**, **SLC45A2**, **SLC24A5**, **C10ORF11**) impliqués respectivement dans les OCA de type 1, 2, 3, 4, 6 et 7 sont connus. Le gène de l'OCA5 a été localisé en 4q25 mais demeure inconnu. Deux gènes d'albinisme oculaire (**GPR143**, **SLC38A8**) et dix gènes de formes syndromiques d'albinisme sont connus (Hermansky-Pudlak 1 à 9, Chediak-Higashi). Le diagnostic moléculaire est réalisé par séquençage nouvelle génération avec la technologie Ion Torrent par méthode AmpliSeq (Life Technologies) couvrant les exons des 18 gènes. Les trous de couverture sont séquencés par NGS avec un panel dédié. Outre les mutations ponctuelles, cette technique nous permet de détecter des délétions ou duplications selon une méthode par analyse des quotients de dosage qui sont calculés pour chaque amplicon en se basant sur la profondeur de séquençage. Les anomalies de dosage génique sont par ailleurs caractérisées par CGH-Array haute résolution. Une cohorte de 688 patients a été analysée et un diagnostic a pu être établi pour 523 d'entre eux (76%) : 32% AOC1 ; 21% AOC2 ; 2% AOC3 ; 9 % AOC4 ; 2 % AOC6 ; 5 % AO ; 2 % HPS1 ; 0,14% HPS3 ; 0,14% HPS4 ; 1.16% HPS5 ; 0,43% HPS6 ; 0,14% HPS8 ; 0,14% LYST ; 0,14% SLC38A8. Nous avons confirmé l'implication du gène **SLC24A5** dans l'AOC6 et montré qu'il était responsable d'environ 2 % des formes non syndromiques d'albinisme (Morice-Picard et al., 2014; Bertolotti et al., 2015). L'utilisation du panel a permis de montrer l'existence chez un même patient de mutations OA1 et OCA3 (Lasseaux et al., 2015). Grâce à l'analyse de gènes de formes rares d'HPS, nous avons établi le diagnostic moléculaire d'HPS5 chez 7 patients ayant un phénotype plutôt oculaire sans hypopigmentation franche. L'utilisation du NGS constitue une approche robuste et efficace dans le cadre de l'activité de diagnostic moléculaire pour la recherche de mutations et de réarrangements. Malgré une analyse complète 24 % des patients restent sans diagnostic moléculaire, 11% n'étant porteurs que d'une mutation hétérozygote et 13% ne présentant aucune mutation des 18 gènes connus. Ceci pourrait être dû à l'existence de mutations dans les introns ou des sites régulateurs éloignés, à l'existence d'autres gènes, ou à l'existence d'un oligogénisme.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

**#3333 : Les mutations du gène RSPH3 sont responsables de dyskinesies ciliaires primitives avec défauts du complexe central et des ponts radiaires**

### Auteurs :

Ludovic Jeanson (1), Bruno Copin (2), Jean-François Papon (3), Florence Dastot-Le Moal (2), Philippe Duquesnoy (1), Guy Montantin (2), Jacques Cadranel (4), Harriet Corvol (5), André Coste (6), Julie Désir (7), Anissa Souayah (8), Esther Kott (1), Nathalie Collot (2), Sylvie Tissier (2), Bruno Louis (9), Aline Tamalet (5), Jacques de Blic (10), Annick Clement (5), Estelle Escudier (11), Serge Amselem (11), Marie Legendre (11)

1. Inserm, Sorbonne Universités UPMC Univ Paris 06, UMRS\_933, Hôpital Trousseau, Paris, France
2. U.F. de Génétique moléculaire (Assistance Publique – Hôpitaux de Paris), Hôpital Trousseau, Paris, France
3. Inserm UMR\_S955, Equipe 13, Université Paris-Est Créteil & Service d'Oto-Rhino-Laryngologie et de Chirurgie Cervico-Maxillo-Faciale (Assistance Publique – Hôpitaux de Paris), Hôpital Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France
4. Service de Pneumologie (Assistance Publique – Hôpitaux de Paris), Hôpital Tenon, Paris, France
5. Service de Pneumologie pédiatrique (Assistance Publique – Hôpitaux de Paris), Hôpital Trousseau, Paris, France
6. Service d'Oto-Rhino-Laryngologie et de Chirurgie Cervico-Faciale (Assistance Publique – Hôpitaux de Paris), Hôpital Intercommunal de Créteil et Hôpital Henri-Mondor, Créteil, France
7. Département de Génétique Médicale, Université Libre de Bruxelles, Hôpital Erasme, Bruxelles, Belgique
8. Service d'Oto-Rhino-Laryngologie, Hôpital Universitaire des Enfants Reine Fabiola, Bruxelles, France
9. Inserm UMR\_S955, Equipe 13, Hôpital Henri-Mondor, Paris, France
10. Service de Pneumologie et Allergologie Pédiatriques (Assistance Publique – Hôpitaux de Paris), Hôpital Necker, Paris, France
11. Inserm, Sorbonne Universités UPMC Univ Paris 06, UMRS\_933 & U.F. de Génétique moléculaire (Assistance Publique – Hôpitaux de Paris), Hôpital Trousseau, Paris, France

**Mots clefs :** dyskinesie ciliaire primitive, cil mobile, RSPH3, ponts radiaires

### Résumé :

La dyskinesie ciliaire primitive est une maladie autosomique récessive due à un défaut de structure ou de fonctionnement de l'axonème des cils mobiles et du flagelle des spermatozoïdes. La grande majorité des gènes impliqués à ce jour est associée à des défauts des bras de dynéine. En revanche, la cause moléculaire demeure largement inconnue chez les patients présentant des anomalies du complexe central (CC) et/ou des ponts radiaires (RS) qui sont difficiles à diagnostiquer.

Nous avons identifié des mutations bi-alléliques non ambiguës du gène *RSPH3* (non-sens, décalant le cadre de lecture, épissage) chez 5 familles sur 48 dans lesquelles les cas index présentent des anomalies CC/RS. Ces patients présentent une anomalie ultrastructurale très particulière associant une quasi-absence des RS dans tous les cils associée à une proportion variable de défauts du CC. L'orthologue de *RSPH3* chez l'algue verte *Chlamydomonas reinhardtii* code pour une protéine majeure des ponts radiaires. Chez un patient porteur de mutations de *RSPH3*, des études par immunofluorescence montrent que la protéine RSPH3, ainsi que RSPH23 (constituant du cou des ponts radiaires) sont absentes des cils de l'épithélium respiratoire ; en revanche, RSPH1 et RSPH4A (protéines de la tête du pont radiaire) sont toujours présentes. Ces données contrastent avec celles du modèle *Chlamydomonas* invalidé pour l'orthologue de *RSPH3* qui présente une absence des orthologues de RSPH1 et RSPH4A. L'analyse du battement des cils respiratoires de ce patient en vidéomicroscopie à haute vitesse a montré la coexistence de cils immobiles et de cils battant avec une amplitude réduite.

Au total, le gène *RSPH3* est responsable de plus de 10% des dyskinesies ciliaires primitives avec des anomalies particulières des CC/RS. L'étude de ce gène devrait permettre d'améliorer le diagnostic au sein de ce sous-groupe phénotypique. Cette étude souligne également le rôle clé de RSPH3 dans l'assemblage des ponts radiaires et du complexe central des cils respiratoires chez l'homme selon un mécanisme différent de celui mis en jeu pour l'assemblage de l'axonème du flagelle de *Chlamydomonas*.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #3334 : Diagnostic moléculaire de la myopathie de Duchenne / Becker et de certaines dystrophies musculaires des ceintures par NGS

#### Auteurs :

Laurence MICHEL-CALEMARD (1), Rita MENASSA (1), Florence ROUCHER BOULEZ (1), Delphine MALLET-MOTAK (1), Nathalie STREICHENBERGER (2), Véronique MANEL (3), Yves MOREL (1)

1. Endocrinologie Moléculaire et Maladies Rares, CBPE, Hospices Civils de Lyon, BRON, France
2. Centre de Pathologie Est, Hospices Civils de Lyon, BRON, France
3. Explorations fonctionnelles neurologiques, HFME, Hospices Civils de Lyon, BRON, France

**Mots clefs :** DMD, BMD, LGMD, NGS, Western Blot, mutations

#### Résumé :

Notre laboratoire réalise le diagnostic moléculaire de la dystrophie musculaire de Duchenne / Becker (DMD/BMD) depuis 1996. Le gène *DMD*, localisé sur le chromosome X, est le plus grand gène connu (2.4 Mb, 79 exons). Son analyse par séquençage Sanger est donc longue et coûteuse.

Parallèlement, depuis 2011, nous avons repris le diagnostic en Western Blot des protéines du muscle impliquées dans les dystrophies musculaires des ceintures (LGMD) et certaines myopathies congénitales : dystrophine, dysferline, alpha et gamma-sarcoglycanes, calpaïne, alpha-dystroglycane et cavéoline.

Nous souhaitons d'une part transférer le séquençage du gène *DMD* du Sanger vers le NGS et d'autre part analyser d'autres gènes impliqués dans les LGMD et certaines myopathies congénitales (alpha-dystroglycane, mérosine), pouvant constituer un diagnostic différentiel.

Un panel Ampliseq™ a été désigné ciblant les gènes (exons  $\pm$  50 bp) : *DMD*, *DYSF*, *SGCA*, *SGCB*, *SGCD*, *SGCG*, *CAPN3*, *CAV3*, *ANO5*, *LAMA2*, ainsi que certains gènes impliqués dans les anomalies de l'alpha-dystroglycane : *FKRP*, *FKTN*, *POMT1*, *POMT2*, *POMGNT1*, *LARGE*.

Les couvertures sont bonnes pour les différents gènes à part certains exons 1 et le gène *FKRP*, riches en GC. Le seul exon codant de ce gène reste donc analysé en Sanger. Sauf orientation particulière par la biopsie, les patients sont analysés en NGS après vérification de l'absence de large lésion *DMD* en MLPA et de mutation *FKRP* en Sanger. Nous réalisons une série NGS par mois avec passage de 12 patients sur une puce Proton.

Des mutations pathogènes ont pu être identifiées dans la plupart des gènes du panel.

L'analyse du gène *DMD* est maintenant réalisée en routine en NGS dans notre laboratoire, après MLPA. L'analyse des autres gènes de notre panel permet progressivement de proposer le diagnostic de certaines LGMD et myopathies congénitales. Les variants potentiellement pathogènes sont vérifiés en Sanger. Les corrélations avec le profil protéique obtenu en Western Blot et Immunohistochimie nous permettent de conclure sur le caractère pathogène des nouveaux variants. Les problèmes posés sont l'impossibilité d'analyse des CNV, les génotypes incomplets, les variants de signification inconnue. Le problème des mutations introniques profondes se pose particulièrement pour le gène *DMD*. Nous proposons donc, dans les dystrophinopathies, une étude des transcrits à partir de la biopsie musculaire afin de rechercher ces mutations introniques non détectées en NGS et d'analyser l'impact des mutations d'épissage.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #3337 : Contribution des mutations du gène *LHX4* aux déficits antéhypophysaires de 510 patients

#### Auteurs :

Enzo Cohen (1), Nathalie Collot (2), Sophie Rose (2), Florence Dastot (2), Philippe Duquesnoy (1), Bruno Copin (3), Anne-Marie Bertrand (4), Frédéric Brioude (5), Latifa Hilal (6), Juliane Leger (7), Mohamad Maghnie (8), Isabelle Oliver-Petit (9), Michel Polak (10), Maïté Tauber (9), Philippe Touraine (11), Marie-Laure Sobrier (1), Serge Amselem (3), Marie Legendre (3)

1. Inserm, Sorbonne Universités UPMC Univ Paris 06, UMRS\_933, Hôpital Trousseau, Paris, France
2. U.F. de Génétique moléculaire (Assistance Publique – Hôpitaux de Paris), Hôpital Trousseau, Paris, France
3. Inserm, Sorbonne Universités UPMC Univ Paris 06, UMRS\_933 & U.F. de Génétique moléculaire (Assistance Publique – Hôpitaux de Paris), Hôpital Trousseau, Paris, France
4. Service de Pédiatrie Endocrinologie, CHU de Besançon, Besançon, France
5. Explorations fonctionnelles endocriniennes (Assistance Publique – Hôpitaux de Paris), Hôpital Trousseau, Paris, France
6. Laboratoire de Biologie générale, Faculté des Sciences, Rabat, Maroc
7. Service d'Endocrinologie pédiatrique (Assistance Publique – Hôpitaux de Paris), Hôpital Robert Debré, Paris, France
8. Pediatrics, IRCCS G. Gaslini, University of Genoa, Gênes, Italie
9. Service d'Endocrinologie et Génétique, Hôpital des Enfants CHU de Toulouse, Toulouse, France
10. Service d'Endocrinologie pédiatrique (Assistance Publique – Hôpitaux de Paris), Hôpital Necker, Paris, France
11. Service d'Endocrinologie pédiatrique (Assistance Publique – Hôpitaux de Paris), Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France

**Mots clefs :** *LHX4*, déficit antéhypophysaire, anomalies morphologiques de l'hypophyse, selle turcique

#### Résumé :

Les mutations du gène *LHX4* sont responsables de déficits antéhypophysaires de transmission dominante avec pénétrance incomplète et expressivité variable. A ce jour, seules 14 mutations hétérozygotes non ambiguës de ce facteur de transcription, à domaines LIM et à homéodomaine, ont été impliquées dans des déficits antéhypophysaires congénitaux. Parmi les 14 cas indépendants décrits, 12 présentaient une post-hypophyse ectopique ou absente à l'imagerie cérébrale et/ou une anomalie de la selle turcique.

Les objectifs de cette étude sont de : i) déterminer la prévalence des mutations de *LHX4* dans une large cohorte de patients (n=510) présentant un déficit antéhypophysaire éventuellement associé à une post-hypophyse ectopique et/ou une anomalie de la selle turcique, ii) décrire plus précisément le phénotype associé aux mutations de *LHX4*, et iii) caractériser le retentissement fonctionnel des variations identifiées.

Le gène *LHX4* a été analysé par séquençage Sanger chez 510 patients indépendants. En plus de la 1<sup>ère</sup> mutation de *LHX4* initialement reportée par notre équipe (c.538-1G > C), nous avons identifié 9 nouvelles variations à l'état hétérozygote : 1 non-sens (p.(Tyr131\*)), 1 décalant le cadre de lecture (p.(Arg48Thrfs\*104)), 1 mutation altérant l'épissage (c.606+1G > T, *de novo*) et 6 variations faux-sens (p.Lys40Asn, p.Ala65Val et p.Arg71Lys dans le domaine LIM1 d'interaction protéique ; p.Thr163Pro, p.Arg221Gln et p.Arg235Gln au niveau de l'homéodomaine). Les études fonctionnelles *in vitro* ont montré une perte totale de fonction pour les mutations p.(Tyr131\*), p.(Arg48Thrfs\*104) et p.Thr163Pro, incapables de transactiver les promoteurs proximaux des cibles *POU1F1*, *GH* et *PRL*. Les expériences d'immunocytofluorescence ont montré une localisation nucléaire préservée pour tous les variants faux-sens. Les protéines correspondant aux mutations tronquantes présentent une localisation cytoplasmique ; les transcrits correspondant à ces mutations sont cependant probablement soumis au mRNA decay. Enfin, l'étude de l'interaction entre *LHX4* et différents partenaires protéiques (*ISL2*, *LDB1*, *LHX3*) par co-immunoprécipitation n'a pas mis en évidence de perte d'interaction pour les variants localisés dans le domaine LIM1, ce qui suggère qu' hormis p.Thr163Pro, les autres variants faux-sens sont probablement des polymorphismes rares. Parmi les 5 patients porteurs d'une mutation délétère (c.538-1G > C, c.606+1G > T, p.(Tyr131\*), p.(Arg48Thrfs\*104) et p.Thr163Pro), 4 présentaient une anomalie morphologique de la post-hypophyse ou de la selle turcique, 1 seul présentait une post-hypophyse eutopique.

Ce travail, qui concerne le plus grand nombre de patients étudiés à ce jour pour *LHX4*, démontre l'implication de ce gène pour 1% (5/510 individus indépendants) des hypopituitarismes. En outre, cette étude, montre que la localisation de la post-hypophyse et la morphologie de la selle turcique sont très variables chez les patients porteurs d'un défaut moléculaire de ce gène.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #3340 : Contribution des mutations du gène *GLI2* aux déficits antéhypophysaires et description du spectre phénotypique associé

#### Auteurs :

Enzo Cohen (1), Florence Dastot (2), Nathalie Collot (2), Stéphanie Friszer (1), Aude Soleyran (2), Alexandra Afenjar (3), Jérôme Bertherat (4), Sylvie Cabrol (5), Jean-Claude Carel (6), Jean Furioli (7), Anne-Marie Guerrot (8), Juliane Leger (6), Bruno Leheup (9), Brigitte Mignot (10), Catherine Naud-Saudreau (11), Sylvie Nivot (12), Chirag Patel (13), Michel Polak (14), Raphaël Rappaport (14), Sophie Rose (2), Dominique Simon (6), Pierre Sizonenko (15), Catherine Vincent-Delorme (16), Amnon Zung (17), Marie-Laure Sobrier (1), Serge Amselem (18), Marie Legendre (18)

1. Inserm, Sorbonne Universités UMPC Univ Paris 06, UMRS\_933, Hôpital Trousseau, Paris, France
2. U.F. de Génétique moléculaire (Assistance Publique – Hôpitaux de Paris), Hôpital Trousseau, Paris, France
3. Service de Neuropédiatrie (Assistance Publique – Hôpitaux de Paris), Hôpital Trousseau, Paris, France
4. Service d'Endocrinologie (Assistance Publique – Hôpitaux de Paris), Hôpital Cochin, Paris, France
5. Explorations fonctionnelles endocriniennes (Assistance Publique – Hôpitaux de Paris), Hôpital Trousseau, Paris, France
6. Service d'Endocrinologie pédiatrique (Assistance Publique – Hôpitaux de Paris), Hôpital Robert Debré, Paris, France
7. Service de Pédiatrie, Centre Hospitalier de Mantes-La-Jolie, Mantes-La-Jolie, France
8. Unité de Génétique clinique, CHU Charles Nicolle, Rouen, France
9. Service de Médecine infantile, CHU de Nancy, Vandœuvre, France
10. Service de Pédiatrie 1, CHU de Besançon, Besançon, France
11. Service d'Endocrinologie pédiatrique, Hôpital du Scorff, CHBS, Lorient, France
12. Unité fonctionnelle d'Endocrinologie pédiatrique, CHU de Rennes, Hôpital Sud, Rennes, France
13. West Midlands Regional Genetics Service, Birmingham Women's Hospital, Birmingham, Royaume Uni
14. Service d'Endocrinologie pédiatrique (Assistance Publique – Hôpitaux de Paris), Hôpital Necker, Paris, France
15. Service de Pédiatrie, Hôpital de la Tour, Genève, Suisse
16. Service de Génétique médicale, CH d'Arras, Arras, France
17. Pediatric Endocrinology unit, Kaplan Medical Center, Rehovot, Israël
18. Inserm, Sorbonne Universités UMPC Univ Paris 06, UMRS\_933 & U.F. de Génétique moléculaire (Assistance Publique – Hôpitaux de Paris), Hôpital Trousseau, Paris, France

**Mots clefs :** *GLI2*, déficit hypophysaire, anomalie de la ligne médiane, anomalie des extrémités

#### Résumé :

Contexte : *GLI2* est un facteur de transcription à doigts de zinc impliqué dans la régulation de la voie de signalisation Sonic Hedgehog, et exprimé précocement lors du développement du cerveau antérieur et de l'hypophyse. Les mutations du gène *GLI2* sont responsables de microformes d'holoprosencéphalie dominantes d'expressivité variable. A ce jour, seulement 15 mutations non ambiguës du gène *GLI2* ont été décrites chez des patients présentant un déficit antéhypophysaire – majoritairement des déficits multiples en hormones antéhypophysaires (CPHD) – parfois associé à une holoprosencéphalie mineure et/ou une polydactylie.

Objectifs et hypothèse : i) étudier la prévalence des mutations de *GLI2* chez des patients présentant un CPHD ou un déficit isolé en hormone de croissance (IGHD) éventuellement associés à un diabète insipide, associés à une histoire personnelle ou familiale d'anomalies de la ligne médiane et/ou une polydactylie/syndactylie, ii) compléter la description du phénotype associé aux mutations du gène *GLI2*.

Méthode : Tous les exons codants de *GLI2* ont été séquencés chez 255 individus indépendants.

Résultats : Dix-neuf nouvelles variations rares (fréquence allélique < 0,05% dans ExAC) hétérozygotes ont été identifiées chez 22 familles indépendantes (23 patients). Huit sont clairement délétères : p.(Asp192Glyfs\*159), p.(Gly198Argfs\*153), p.(Arg264\*), p.(Tyr893\*), p.(His959Profs\*72), p.(Gln1145\*), p.(\*1587Tyext\*46) et un faux-sens concernant un doigt de zinc (p.Tyr435Cys). Cinq sont probablement délétères (p.Arg473His, p.Ser831del, p.Pro63Leu, p.Ser941Arg et p.Arg1382His) : elles entraînent un changement de charge et/ou d'encombrement stérique et concernent des résidus invariants au cours de l'évolution localisés dans des domaines fonctionnels. Pour 6 autres variations faux-sens (p.Ala117Thr, p.Gly619Ser, p.Arg720His, p.Ala1077Val, p.Pro1228Leu et p.Asp1435Glu), des études fonctionnelles sont nécessaires pour confirmer leur pathogénicité.

Les 13 patients porteurs d'une mutation clairement ou probablement délétère présentent un IGHD (n=7) ou un CPHD (n=6). Certains de ces patients présentaient également : une fente labio-palatine bilatérale (n=2), une

atrésie/hypoplasie des choanes (n=3), une agénésie du septum pellucidum (n=1), une anomalie du corps calleux (n=2), une polydactylie (n=2), une syndactylie 2-3 au niveau des pieds (n=3) et une incisive médiane unique (n=2).

Parmi les 7 apparentés porteurs d'une mutation clairement délétère, un présentait une anomalie isolée des extrémités et 6 étaient asymptomatiques. Ceci souligne la difficulté du conseil génétique associé aux mutations de ce gène.

Conclusions : Dans cette large cohorte de patients présentant un hypopituitarisme associé à un antécédent personnel ou familial d'anomalie de la ligne médiane et/ou d'anomalie des extrémités, les mutations de *GLI2* sont responsables de près de 4% (10/255) des cas indépendants.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #3342 : Apport du séquençage haut débit dans le diagnostic moléculaire des syndromes d'Ehlers-Danlos

#### Auteurs :

Alix de Becdelievre (1), Valérie Jobic (1), Corinne Métaï (1), Karelle Benistan (2), Iulia Jurca-Simina (3), Dominique P. Germain (4), Pascale Richard (1)

1. UF de Cardiogénétique et Myogénétique, CGMC, GH Pitié-Salpêtrière- Charlefoix, APHP, Paris, France
2. Centre de référence de la maladie de Fabry et des pathologies héréditaires du tissu conjonctif, Hôpital R. Poincaré, APHP, Garches, France
3. Centre de référence de la maladie de Fabry et des pathologies héréditaires du tissu conjonctif, APHP, Hôpital R. Poincaré, Garches, France
4. UFR des Sciences de la Santé Simone Veil, Université de Versailles - St Quentin en Yvelines, Montigny, France

**Mots clefs :** NGS, COL6, Ehlers-Danlos, hyperlaxité

#### Résumé :

Les syndromes d'Ehlers-Danlos (SED) constituent un groupe de pathologies du tissu conjonctif associant une hyperlaxité articulaire, une faiblesse musculaire, des signes cutanés (hyperélasticité, cicatrices hypertrophiques, chéloïdes,...) et dans certains types une asthénie, des douleurs, des troubles digestifs et parfois des troubles somatoformes. Il existe une hétérogénéité génétique et des mutations ont été identifiées dans de nombreux gènes connus. Hormis pour le SED vasculaire (ancien SED de type IV), peu de tests en diagnostic moléculaire sont actuellement proposés en France pour ces pathologies.

Jusqu'à présent, notre laboratoire de génétique moléculaire de la Pitié Salpêtrière (<http://www.cgmc-psl.fr/>) proposait le diagnostic moléculaire des collagénopathies liées au collagène VI (myopathies d'Ullrich et de Bethlem) dont les phénotypes sont marqués par une atteinte musculaire, une hyperlaxité articulaire et des signes cutanés. Dans le cadre du diagnostic différentiel de ces pathologies, nous avons mis au point en partenariat avec le centre de référence des pathologies héréditaires du tissu conjonctif (<http://www.centre-geneo.com>) un panel de 13 gènes associés à des hyperlaxités articulaires comprenant 9 gènes impliqués dans les syndromes d'Ehlers-Danlos de type I (classique), II (classique), III (hypermobile) VI (scoliotique), VII (arthrochaliasique) les 3 gènes codant le collagène VI (impliqué dans les myopathies d'Ullrich et de Bethlem), et le gène *COL12A1*.

Nous rapportons ici les résultats obtenus chez 9 patients présentant une hyperlaxité articulaire évoquant un syndrome Ehlers-Danlos, avec une capture à façon ciblant les exons codants des 13 gènes sélectionnés (530 cibles, environ 90kb) (SeqCap EZ choice, Roche Nimblegen) analysés sur séquenceur MiSeq (Illumina).

Le séquençage haut débit permet aux patients pour lesquels il y avait jusqu'alors peu de solutions diagnostiques d'accéder au diagnostic moléculaire, et aux familles de recevoir un conseil génétique et une prise en charge thérapeutique optimisée

### #3348 : Des mutations d'épissage du gène *UBASH3A* prédisposent à la pelade

#### Auteurs :

INES MALEK (1), Vincent Descamps (2), Meriem Benfodda (1), Pascal Reygagne (3), Armand Bensussan (1), Nouha Bou Ali (4), Amina Aounallah (5), mohamed Denguezli (5), Ali Saad (6), Lobna Boussofara (7), Moez Gribaa (6), Nadem Soufir (1)

1. Centre de recherche sur la peau INSERM U976, Hôpital Saint Louis , PARIS, France
2. Service de dermatologie , Hôpital Bichat Claude Bernard , PARIS, France
3. Centre Sabouraud, Hôpital Saint Louis , PARIS, France
4. service de cytogénétique de biologie moléculaire et de biologie de la reproduction humaine , Hôpital Farhad Hached , sousse , Tunisie
5. Service de dermatologie , Hôpital Farhad Hached , Sousse , Tunisie
6. Service de cytogénétique de biologie moléculaire et de biologie de la reproduction humaine , Hôpital Farhad Hached , Sousse , Tunisie
7. Service de dermatologie , Hôpital Farhad Hached , Sousse , France

**Mots clefs** : prédisposition, pelade, maladie auto-immune, mutation d'épissage, *UBASH3A*

#### Résumé :

**Introduction** : La pelade est une maladie auto-immune caractérisée par l'apparition de plaques alopéciques, pouvant avoir un retentissement psychologique majeur. Sa physiopathologie reste inconnue. Elle est considérée comme une perte de tolérance immunologique du follicule pileux avec un risque de 2% au cours de la vie. Une composante génétique forte est remarquable du fait de la fréquence des formes familiales (20%), et par la présence chez le patient et/ou ses apparentés d'autres maladies auto-immunes.

Le but de cette étude était d'identifier de nouveaux gènes de susceptibilité à la pelade.

**Matériels et Méthodes** : Une étude d'exome (Kit Agilent R All Exon V5, séquenceur Hi Seq 1000 Illumina) a été effectuée chez une famille avec deux membres atteints. Le gène candidat a été reséquéncé dans une cohorte de 135 patients atteints de pelade et chez 394 contrôles sans antécédents de maladies auto-immunes. La fréquence des mutations a été comparée à celle des témoins.

**Résultats** : L'analyse des exomes permettait d'identifier une nouvelle mutation d'épissage non répertoriée, située dans l'exon 14 du gène *UBASH3A* c.1848+1 G > T. Cette dernière était présente chez les 2 membres atteints de pelade en plaque. Le gène *UBASH3A* a ensuite été reséquéncé (Sanger) chez les patients atteints de pelade, ce qui a permis d'identifier une seconde mutation d'épissage dans l'exon 9, c.1171-3, C > G. La comparaison de la fréquence des mutations d'épissage d'*UBASH3A* chez les patients et les témoins suggère une forte association au risque de pelade (Odd ratio = 5 [1.03-26.84]).

**Discussion** : *UBASH3A* appartient à la famille de l'ubiquitine du ligand des cellules T (TULA). Il code pour une protéine de 66 acides aminés, qui joue un rôle dans la régulation des taux de phosphorylation de la tyrosine dans les cellules T en se liant à la protéine AIF, un facteur clé dans l'induction de la caspase de l'apoptose. En effet tout changement dans la structure ou le taux d'expression du gène *UBASH3A* peut affecter la liaison avec la protéine AIF et par conséquent une modification du taux d'apoptose. Des études récentes ont montré que des SNP du gène *UBASH3A* sont associés à des maladies auto-immunes comme le diabète de type 1, la maladie coeliaque, la polyarthrite rhumatoïde et le vitiligo, ce qui suggère que ce gène pourrait jouer un rôle important dans la pathogenèse de maladies auto-immunes.

**Conclusion** : Nos résultats montrent que les mutations d'épissage du gène *UBASH3A* prédisposent à la pelade. Nous projetons d'élargir notre cohorte d'étude et d'étudier l'expression du gène *UBASH3A* (ARN, protéine) dans les lymphocytes et les kératinocytes des follicules pileux sains et peladiques.

**#3349 : Syndrome d'Alström: spectre des mutations du gène *ALMS1***

**Auteurs :**

Marshall Jan D. (1), Jean Muller (2), Gayle Collin (1), Gabriella Milan (1), Stefen F. Kingsmore (1), Darrell Dinwiddie (1), Emily G. Farrow (1), Neil A. Miller (1), Francesca Favaretto (1), Pietro Maffei (1), Hélène Dollfus (2), Roberto Vettor (1), Juergen Naggert (1)

1. Array, Array, Array,
2. , , STRASBOURG, France

**Mots clefs :** *ALMS1*, Syndrome d'Alström, mutation, séquençage à haut débit

**Résumé :**

Le syndrome d'Alström (*ALMS*) (OMIM #203800) est une maladie monogénique rare de transmission autosomique récessive dont la prévalence dans la littérature, et très certainement sous-évaluée, est comprise entre 1/500 000 et 1/1 000 000. Le syndrome d'Alström est classé parmi les ciliopathies et se caractérise par une atteinte multi organes incluant une dégénérescence rétinienne très précoce (type cone-rod), une obésité tronculaire précoce, une surdité neurosensorielle précoce, une cardiomyopathie, un diabète de type 2 ou une résistance à l'insuline, une atteinte hépatique et une atteinte rénale. Les signes cliniques apparaissent progressivement au cours de la vie rendant ce diagnostic parfois difficile et souvent trop tardif.

Des mutations d'un seul gène, *ALMS1* sont responsables des signes cliniques des patients. Ce gène localisé sur le chromosome 2 comporte 23 exons pour une séquence codante avoisinant les 13kb correspondant à une protéine de ~4200 aa. La taille conséquente des zones à explorer en biologie moléculaire rend la stratégie diagnostique complexe et explique l'errance diagnostic des patients à ce jour.

Le but de notre étude était de compléter le spectre des mutations connues du gène *ALMS1*. Nous avons ainsi appliqué des stratégies d'enrichissement par capture couplés à du séquençage à haut débit sur une large cohorte mondiale de patients dont les signes cliniques étaient compatibles avec la pathologie. Sur les 204 familles, nous avons ainsi pu identifier 357 allèles pathogènes sur 408 possibles portant ainsi le taux de détection à 88%. Cette étude a permis de révéler 109 mutations pathogènes jamais décrites auparavant portant ainsi le nombre total des allèles pathogènes à 239. Ces résultats mettent en avant la grande hétérogénéité allélique de la pathologie. Cette étude est la plus large jamais menée sur cette pathologie rare.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

**#3350 : MDH2, un nouveau gène de prédisposition aux paragangliomes familiaux, également responsable d'une atteinte neurologique infantile avec épilepsie pharmacorésistante**

### Auteurs :

Samira Ait-El-Mkadem Saadi (1), Manal Quere (1), Annabelle Chaussonot (1), Konstantina Fragaki (1), Sylvie Bannwarth (1), Cécile Rouzier (1), Agnès Delahodde (2), Christelle Vasnier (2), Susan Richter (3), Graeme Eisenhofer (3), Anne De Saint-Martin (4), Véronique Paquis-Flucklinger (1)

1. Service de Génétique Médicale, Centre de référence des maladies mitochondriales , CHU de Nice/IRCAN UMR7284-INSERM U1081-UNS , Nice, France
2. Institute for Integrative Biology of the Cell (I2BC) , Université Paris-Sud, Paris, France
3. Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, University of Dresden, Dresden, Allemagne
4. Service de Neurologie Pédiatrique, centre de référence pour les épilepsies rares, CHU de Strasbourg, Strasbourg, France

**Mots clefs :** MDH2, maladie mitochondriale, épilepsie pharmacorésistante, paragangliomes familiaux

### Résumé :

Nous décrivons un enfant qui a présenté, à l'âge de 5 mois, un retard du développement psychomoteur avec une absence de tenue de tête, une hypotonie généralisée et un strabisme. A 7 mois, il développe une épilepsie partielle pharmacorésistante et un retard staturo-pondéral. A 12 mois, l'examen retrouve une hypotonie globale, un retard psychomoteur important avec une absence de tenue assise, une amyotrophie très sévère, une gestulation pauvre ainsi qu'un thorax en carène. A l'âge de 3 ans, le retard staturo-pondéral est à -2DS pour la taille et le périmètre crânien et à -3DS pour le poids, malgré la pose d'une gastrostomie. Il présente une fatigabilité, une constipation opiniâtre, et des mouvements anormaux de type dystonie et dyskinésie. Une rétinite pigmentaire est diagnostiquée à l'âge de 4 ans. L'IRM cérébrale initiale montrait des anomalies peu spécifiques avec apparition secondaire d'hypersignaux des thalami et un pic de lactates en spectroIRM. L'analyse du prélèvement musculaire retrouvait une accumulation lipidique sans déficit de la chaîne respiratoire (CR). L'analyse du prélèvement hépatique révélait un déficit du complexe V de la CR associé à un déficit en quinones. L'étude de l'ADN mitochondrial (ADNmt) n'avait pas retrouvé d'anomalie. La recherche de mutations en Sanger dans plusieurs gènes nucléaires candidats était négative. Par séquençage d'exome, nous avons retrouvé 2 mutations faux sens hétérozygotes composites dans le gène *MDH2*. La ségrégation familiale, les études de conservation et les analyses *in silico* sont en faveur d'un effet pathogène de ces 2 variants. Le dosage par ELISA montre un effondrement de l'activité enzymatique dans les fibroblastes du patient suggérant un déficit sévère en malate déshydrogénase mitochondriale. Une augmentation des ratios malate/citrate et fumarate/citrate a également été retrouvée dans les fibroblastes de l'enfant. Les analyses de complémentation dans la levure et dans les fibroblastes du patient sont en cours. *MDH2* est une enzyme du cycle de Krebs qui catalyse la conversion du malate en oxaloacétate. Récemment, il a été montré que des mutations germinales dans *MDH2* prédisposent à des formes familiales de paragangliomes. Après *SDH* et *FH*, *MDH2* est un nouveau gène mitochondrial de susceptibilité aux tumeurs dont les mutations à l'état homozygote sont responsables d'atteintes neurologiques infantiles sévères.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #3353 : Contribution des mutations des gènes impliqués dans le métabolisme du surfactant aux pneumopathies interstitielles chroniques et fibroses pulmonaires idiopathiques de l'enfant et l'adulte dans une cohorte de 265 familles

#### Auteurs :

Nadia Nathan (1), Florence Dastot Le Moal (2), Valérie Nau (2), Caroline Kannengiesser (3), Sylvie Tissier (2), Raphaël Borie (4), Hilario Nunes (5), Martine Reynaud-Gaubert (6), Dominique Valeyre (5), Bruno Crestani (4), Sylvain Marchand-Adam (7), Jean-Marc Naccache (8), Grégoire Prevot (9), Guillaume Lezmi (10), Christophe Delacourt (10), Dominique Israël Biet (11), Caroline Thumerelle (12), Antoine Deschildre (12), Christophe Marguet (13), Philippe Reix (14), Vincent Cottin (15), Marie-Laure Dalphin (16), Anne Gondouin (17), Clément Picard (18), Violaine Girault (19), Claire Dromer (20), Marie Legendre (2), Laurent Gouya (21), Lamisse Mansour Hendili (2), Annick Clément (1), Serge Amselem (2)

1. INSERM UMR-S933; Service de Pneumologie pédiatrique et Centre de Référence des maladies respiratoires rares, INSERM; AP-HP Hôpital Armand Trousseau; Université Paris Sorbonne Pierre et Marie Curie-Paris06, Paris, France
2. Service de Génétique et d'embryologie médicales et INSERM UMR-S933, AP-HP Hôpital Armand Trousseau; INSERM; Université Paris Sorbonne Pierre et Marie Curie-Paris06, Paris, France, Paris, France
3. Service de Génétique, AP-HP Hôpital Bichat Claude Bernard, Paris, France
4. Service de Pneumologie, AP-HP Hôpital Bichat Claude Bernard, Paris, France
5. Service de Pneumologie, AP-HP Hôpital Avicenne, Bobigny, France
6. Service de Pneumologie, AP-HM, Marseille, France
7. Service de Pneumologie, CHU Tours, Tours, France
8. Service de Pneumologie, AP-HP Hôpital Tenon, Paris, France
9. Service de Pneumologie, CHU Toulouse, Toulouse, France
10. Service de Pneumologie Pédiatrique, AP-HP Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France
11. Service de Pneumologie, AP-HP Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris, France
12. Service de Pneumologie Pédiatrique, CHU Lille, Hôpital Jeanne de Flandres, Lille, France
13. Service de Pneumologie Pédiatrique, CHU Rouen, Rouen, France
14. Service de Pneumologie Pédiatrique, CHU Lyon, Lyon, France
15. Service de Pneumologie, CHU Lyon, Lyon, France
16. Service de Pneumologie Pédiatrique, CHU Besançon, Besançon, France
17. Service de Pneumologie, CHU Besançon, Besançon, France
18. Service de Pneumologie, Hôpital Foch, Suresnes, France
19. Service de Pneumologie, AP-HP Hôpital Ambroise Paré, Boulogne Billancourt, France
20. Service de Pneumologie, CHU Bordeaux, Bordeaux, France
21. INSERM UMR\_S1149; CNRS ERL 8252, INSERM; CNRS; Université Paris Diderot, Colombes, France

**Mots clefs :** surfactant, pneumopathie interstitielle chronique, fibrose pulmonaire idiopathique

#### Résumé :

##### Introduction

Les pneumopathies interstitielles diffuses (PID) et fibroses pulmonaires idiopathiques (FPI) sont un groupe de pathologies sévères touchant des individus de tous âges. Une cause génétique est mise en évidence dans 20% des cas pédiatriques, et 2 à 20% des formes adultes selon qu'elles soient sporadiques ou familiales. Chez l'enfant, les gènes les plus souvent impliqués codent pour les protéines du surfactant (SP) B et C, et leur transporteur ATP-binding cassette family A member 3 (*SFTPB*, *SFTPC*, *ABCA3*). Chez l'adulte, les gènes du système des télomères, *TERT* (telomerase reverse transcriptase) et *TERC* (telomerase RNA component), représentent 15% des cas. Plus récemment, des mutations de *SFTPC* et *ABCA3*, mais aussi de *SFTPA2*, ont été associées à des PID/FPI. L'objectif de cette étude est d'évaluer l'intérêt d'une analyse génétique systématique de *SFTPA2*, *SFTPB*, *SFTPC* et *ABCA3* chez des patients présentant une PID/FPI.

##### Patients et Méthodes

Les patients présentant une PID/FPI (sans mutation de *TERT* et *TERC* pour les patients adultes) étaient inclus dans cette étude. Le cas index retenu était le patient le plus jeune de chaque famille. Les exons et les régions introniques flanquantes des gènes suivants ont été analysés par méthode Sanger : *SFTPA2*, *SFTPB*, *SFTPC*, et *ABCA3*. L'étude a reçu un avis favorable du comité de protection des personnes et chaque patient (ou son représentant légal pour les mineurs) a donné son consentement éclairé écrit.

##### Résultats

265 familles indépendantes (369 patients) ont été incluses en 3 ans. Quarante-six patients (17%) présentaient une forme familiale. Le cas index était un enfant pour 104 familles (39%). Une cause génétique a été identifiée chez 17 familles (6,4%) : 9 enfants et 8 adultes indépendants qui étaient des cas aussi bien familiaux que sporadiques. Des mutations hétérozygotes de *SFTPA2* ont été retrouvées chez 3 patients adultes (29 à 54 ans) ; aucune mutation de *SFTPB* n'a été identifiée ; une mutation hétérozygote de *SFTPC* a été identifiée chez 9 patients dont 5 enfants et 4 adultes (0 à 58 ans) ; enfin, des mutations homozygotes ou hétérozygotes composites de *ABCA3* ont été mises en évidence chez 5 patients, dont 4 enfants et un adulte (0 à 32 ans).

#### **Discussion**

Alors que les maladies liées au métabolisme du surfactant sont surtout considérées comme des pathologies pédiatriques, cette étude révèle que la moitié des cas sont diagnostiqués chez des adultes. L'étude des gènes *SFTPA2*, *SFTPC* et *ABCA3* identifie une cause moléculaire dans environ 6,5% des familles. Ces mutations sont décelées autant dans les formes pédiatriques que adultes de PID/FPI, dans des cas familiaux et sporadiques. Une analyse systématique de ces gènes est donc à envisager quel que soit l'âge de survenue de la PID/FPI, et qu'il s'agisse ou non d'une forme familiale. Cette étude soulève aussi la question du conseil génétique dans ces familles, qui peut s'avérer délicat dans ces pathologies rares et d'expressivité variable.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #3356 : Identification and characterization of a new *CISD2* mutation in a French patient with a typical Wolfram syndrome

#### Auteurs :

Cécile Rouzier (1), Cécile Delorme (2), Sylvie Bannwarth (1), Annabelle Chaussonot (1), Samira Ait-El-Mkadem (1), Konstantina Fragaki (1), Valérie Serre (3), Sandra Lacas-Gervais (4), Manal Quere (1), David Moore (5), Patrick Yu-wai-man (6), Martin Catala (2), Véronique Paquis-Flucklinger (1)

1. Department of Medical Genetics, National Centre for Mitochondrial Diseases, Nice Teaching Hospital, NICE, France
2. UMR 7622 CNRS et UPMC et Fédération de Neurologie, Université Pierre et Marie Curie et Groupe hospitalier Pitié-Salpêtrière, PARIS, France
3. UMR7592 CNRS, Jacques Monod Institute, Paris Diderot University, PARIS, France
4. Joint Center for Applied Electron Microscopy, Nice Sophia-Antipolis University, NICE, France
5. Wellcome Trust Centre for Mitochondrial Research, Institute of Genetic Medicine, International Centre for Life, Newcastle University, Newcastle, Royaume Uni
6. Wellcome Trust Centre for Mitochondrial Research, Institute of Genetic Medicine, International Centre for Life, Newcastle University, Newcastle, France

**Mots clefs :** *CISD2* mitochondria Wolfram

#### Résumé :

Wolfram syndrome is an autosomal recessive disorder characterized by diabetes mellitus and optic atrophy usually associated with diabetes insipidus, deafness, renal tract abnormalities or neuropsychiatric disorders due to mutations in the *WFS1* gene. Mutations in a second gene, *CISD2*, have also been described in patients with Wolfram syndrome type 2 characterized by diabetes mellitus and optic atrophy associated with peptic ulcer disease, bleeding tendency but without diabetes insipidus and psychiatric disorders. To date, only five families have been described and few data are available concerning the phenotype of these patients and the role of *CISD2*.

Among our French cohort of 98 patients suggestive of Wolfram syndrome with at least diabetes mellitus and optic atrophy, we identified 2 *WFS1* mutations in 78 patients (80%). We sequenced the *CISD2* gene in the 20 patients with only one *WFS1* mutation (7 patients (7%)) or without any mutation (13 patients, 13%). We identified a new missense homozygous *CISD2* mutation, c.215A > G (p.Asn72Ser) in a patient with a classical Wolfram syndrome without digestive or hematologic symptoms. MRI of brain showed also typical signs of Wolfram syndrome. Segregation within the family, in silico analysis and absence in control patients were in favor of the pathogenicity of this mutation. To better define the role of *CISD2* in these patients, we also performed for the first time functional studies on primary fibroblasts (mitochondrial respiratory chain activity, electronic microscopy, autophagy analysis).

We showed that in around 10% of patients suspected of Wolfram syndrome no mutation in *WFS1* could be identified by sequencing. In these patients, we showed that, even if mutations in *CISD2* seem to be rare events, this gene must be sequenced in every patients presenting with early onset DM and OA even without hematological or digestive additional signs. Moreover, we observed structural and biochemical mitochondrial abnormalities confirming that the WFS2 phenotype is a mitochondria-mediated disorder and the role of *CISD2* in mitochondrial integrity. Further studies are needed to understand physiopathological mechanisms of *CISD2* mutations and the link with *WFS1*.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #3358 : Des mutations dans *VRK1* sont responsables d'une forme axonale de la maladie de Charcot-Marie-Tooth à transmission autosomique récessive

#### Auteurs :

Lara EL BAZZAL (1), Christel CASTRO (1), Nathalie ROECKEL-TREVISIOL (2), Jean-Pierre DESVIGNES (2), Nicolas LEVY (3), Andre MEGARBANE (4), Rosette JABBOUR (5), Valérie DELAGUE (6)

1. Inserm UMR\_S 910, GMGF, Aix Marseille Université, Marseille, France
2. Inserm UMR\_S 910, GMGF, Aix Marseille Université, MARSEILLE, France
3. Inserm UMR\_S 910, Département de Génétique Médicale, Hôpital d'Enfants de la Timone, AP-HM, MARSEILLE, France
4. Unité de Génétique Médicale, Faculté de Médecine, Université Saint Joseph, , Beyrouth, Liban
5. Neurology Division, Department of Internal Medicine, St George Hospital University Medical Center-UOB,, , Beirut, Liban
6. Inserm UMR\_S 910, GMGF, Aix Marseille Université, marseille, France

**Mots clefs :** neuropathie, CMT, spinal, Gène, Mutation, exome, NGS, allélique

#### Résumé :

Les Neuropathies Périphériques Héritaires (IPN) constituent un groupe hétérogène de maladies neurologiques héréditaires, caractérisées par une dégénération progressive, longueur-dépendante, du système nerveux périphérique (SNP). Sur le plan clinique, on distingue trois grands groupes: (i) les neuropathies Sensitivo-motrices (HMSN), plus connues sous le nom de maladie de Charcot-Marie-Tooth (CMT), (ii) les neuropathies motrices pures, dites spinales (dHMN), et (iii) les neuropathies sensitives pures (Hereditary Sensory Neuropathies, HSN). Sur le plan génétique, tous les modes de transmission existent et des mutations sont décrites dans près de 90 gènes (environ 50 pour le CMT).

Nous avons étudié une famille d'origine libanaise, présentant un frère et une sœur atteints d'une forme spinale de la maladie de Charcot-Marie-Tooth, associée à une atteinte centrale (signes pyramidaux). Nous avons réalisé, chez ces deux patients, un séquençage de l'exome (capture Agilent Sureselect et séquençage Illumina 2\*100 pb, paired-end). L'alignement, le variant calling et l'annotation ont été réalisés selon un pipeline développé en interne, utilisant BWA/GATK et ANNOVAR. Les données générées ont ensuite été analysées en utilisant un logiciel développé en interne pour l'annotation et la ségrégation des variants (VarAFT).

En pratique, nous avons recherché, sur les données d'exomes, les variants hétérozygotes composites partagés par les deux patients après application de différents filtres. Nous avons ainsi pu identifier une liste très réduite de gènes (<5) contenant les deux mêmes variations hétérozygotes composites chez les 2 patients. La ségrégation de ces variations, par séquençage Sanger, a permis d'éliminer certains gènes candidats, et de proposer les deux variations faux-sens c.656G>T(p.Arg219Ile) et c.761G>T (p.Trp254Leu), hétérozygotes composites dans le gène *VRK1*, comme variations pathogènes dans cette forme particulière de Neuropathie Périphérique axonale associée à une atteinte centrale.

En effet, les deux variations ségrégent avec la maladie dans la famille, sont absentes des bases de données de polymorphisme (dbSNP et EXAC) et de 300 chromosomes contrôles libanais. Par ailleurs, des mutations dans le gène *VRK1* ont préalablement été décrites dans 2 autres maladies neurologiques à transmission autosomique récessive : l'hypoplasie pontocérébelleuse de type 1A (PCH1A; OMIM 607596), ou amyotrophie spinale avec hypoplasie pontocérébelleuse (SMA-PCH), et une forme complexe de neuropathie périphérique sensitivo-motrice axonale, accompagnée d'une microcéphalie progressive sévère et d'une dysgénésie cérébrale.

En conclusion, nous décrivons *VRK1*, comme nouveau gène de CMT spinal (dHMN). Nos patients ne présentant pas d'anomalie ponto-cérébelleuse, ni de microcéphalie, (présente chez tous les patients mutés dans *VRK1*, décrits à ce jour), cette neuropathie peut être considérée comme une nouvelle maladie allélique à PCH1A au locus *VRK1*.

### #3360 : Identification de mutations de FGFR3 dans des retards staturaux isolés

#### Auteurs :

caroline michot (1), coralie haudry (1), geneviève baujat (1), sophie monnot (1), sylvain hanein (2), arnold munnich (1), jean-paul bonnefont (1), valérie cormier-daire (1)

1. Département de Génétique, Centre de référence Maladies Osseuses Constitutionnelles, INSERM UMR1163, Université Paris Descartes-Sorbonne Paris Cité, Institut Imagine, Hôpital Necker-Enfants Malades, paris, France  
2. Institut Imagine, Hôpital Necker-Enfants Malades, paris, France

**Mots clefs :** FGFR3, retard statural, NGS

#### Résumé :

Le retard statural est un motif fréquent de consultation et constitue une porte d'entrée vers de nombreuses étiologies. Le diagnostic final de petite taille idiopathique est un diagnostic d'exclusion qui est cependant fréquent. Les mutations du gène *FGFR3* entraînent différentes formes de retard statural, caractérisées par une petite taille disproportionnée dont la moins sévère est l'hypochondroplasie. Récemment, une mutation de *FGFR3*, p.Met528Ile, a été décrite dans une famille de retard statural dit isolé, sans disproportion corporelle (Kant & al, Eur J Endoc, 2015).

Afin d'identifier les retards staturaux dus à une anomalie de l'ossification endochondrale, nous avons développé un panel de reséquençage ciblé « retard statural-maladies osseuses constitutionnelles (MOC) » analysant 70 gènes impliqués dans des MOC. La librairie d'amplicons est obtenue par capture grâce au kit Sure-Select MOC-retard statural-v1.hg19 ID0686631 (Agilent technologies). Le séquençage est réalisé à haut débit sur HiSeq (Illumina). L'alignement et la détection des variants sont faits à l'aide des logiciels Burrows-Wheeler et Genome Analysis Toolkit, puis l'annotation et l'analyse sont réalisées par une interface locale (PolyWeb).

Les ADNs de 57 patients ont été étudiés sur ce panel. Parmi eux, 4 cas présentent une variation du gène *FGFR3* probablement pathogène. Une patiente de 1 an a un tableau d'hypochondroplasie avec fémurs au 10<sup>ème</sup> percentile en anténatal, taille de naissance à 48 cm et discrète mésomélie. Sa mère mesure 1,50 m, a un PC à +2 DS, des mains courtes, un canal vertébral relativement étroit avec cols fémoraux un peu courts. Deux cas, âgés de 18 et 11 ans, présentent un retard statural à -4 et -3 DS, avec pour l'un mésomélie et radius curvus et pour l'autre un Madelung. Le phénotype est hérité dans les deux cas de mères mesurant respectivement 1,51 m et 1m58 et ayant des avant-bras trapus. Dans ces deux cas, l'analyse de *SHOX* (MLPA et séquençage) est normale. Enfin, un dernier patient (13,5 ans) présente un retard statural à -2 DS isolé, sans disproportion, ni orientation radiologique ; son père mesure 1m64 à -1,75 DS.

Les variants hétérozygotes identifiés sont respectivement p.Asn262Tyr, c.2281-3C > T, p.Val346Met et p.Ser249Phe ; tous sont hérités du parent présentant également une taille limite. Les variants ne sont pas répertoriés dans dbSNP sauf le dernier (< 1/1,000) ; le premier est absent de ExAC et les 3 derniers ont une fréquence < 1/50,000. Les logiciels de prédiction Polyphen et SIFT prévoient un effet délétère pour le 1<sup>er</sup> et le 4<sup>ème</sup> variant ; le 3<sup>ème</sup> est prédit comme bénin, mais il ségrège avec le trait. Le 2<sup>ème</sup> variant est prédit comme délétère sur l'épissage.

Ces résultats confirment l'implication du gène *FGFR3* dans un spectre phénotypique large comprenant les retards staturaux sans disproportion ou avec mésomélie. Des tests fonctionnels avec étude de l'activation de la voie de signalisation STAT permettront de confirmer l'impact de ces variants.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #3363 : Etude fonctionnelle de 2 mutations faux-sens du gène LMNA dans le syndrome métabolique

#### Auteurs :

Damien Galant (1), Catherine Badens (2), Patrice Bourgeois (2), Nathalie Bonello-Palot (2), Camille Desgrouas (1), Françoise Mérono (1), Pauline Arnaud (3), Patrice Roll (4), Anne Dutour (5), Nicolas Lévy (1)

1. Génomique médicale et fonctionnelle, UMR\_S910 INSERM Faculté de Médecine Aix-Marseille Université, Marseille, France
2. Département de Génétique Médicale, Hôpital de la Timone Enfants, Marseille, France
3. Département de Génétique, CHU Paris Nord-Val de Seine-Hôpital Xavier Bichat, Paris, France
4. Laboratoire de Biologie cellulaire, Hôpital de la Timone Enfants, Marseille, France
5. Nutrition, obésité et risque thrombotique, UMR INSERM 1062, INRA 1260, Faculté de Médecine Aix-Marseille Université, Marseille, France

**Mots clefs :** Syndrome Métabolique, Gène LMNA, Mutation faux-sens

#### Résumé :

Le syndrome métabolique atteint aujourd'hui une prévalence de 25% des sujets adultes en Europe et 30% en Amérique du Nord. Cette pathologie est définie par l'association des signes suivants: une dyslipidémie (hypercholestérolémie et/ou hypertriglycéridémie), une résistance à l'insuline ou un diabète, une hypertension artérielle et une lipodystrophie et prédispose aux pathologies cardiovasculaires. Ces signes cliniques et/ou biologiques sont retrouvés avec une sévérité plus marquée dans les laminopathies systémiques, suggérant un possible mécanisme commun entre ces différentes entités. Lors d'une étude réalisée en 2011 sur une cohorte de 100 patients atteints de syndrome métabolique, il a été montré que 10% d'entre eux présentaient des anomalies de la morphologie des noyaux de leurs cellules, signe caractéristique des laminopathies. La recherche de variants dans le gène codant pour la lamine A (*LMNA*) par séquençage, a mis en évidence chez 2 de ces patients, 2 nouvelles mutations hétérozygotes faux-sens non décrites auparavant. Ces deux mutations, c.1232G > A et c.1893G > A induisent le même changement d'acides aminés (Glycine en Aspartate) en position 411 et 631 respectivement. Ces substitutions sont prédites pathogènes par les différents logiciels et algorithmes d'analyse bio-informatique (Mutation Taster, PolyPhen2, SIFT, ...). Elles se situent dans le tail domain de la protéine. La mutation c.1232G > A se situe à proximité du signal NLS (Nuclear Localization Signal). La mutation c.1893G > A se trouve à proximité du domaine C-terminal impliqué dans les différentes étapes de maturation post-traductionnelles nécessaires à la maturation de la protéine.

Nous avons testé, par l'expression transitoire de plasmides, l'effet des mutations caractérisées dans le gène *LMNA*, des patients atteints de syndrome métabolique. Différents types cellulaires ont été transfectés: cellules endothéliales et fibroblastes avec 3 plasmides différents, contenant un ADNc codant soit pour la prélamine A normale soit pour une prélamine A mutée. Après transfection, le taux d'anomalies nucléaires a été évalué. Le pourcentage de transfection obtenu est en moyenne de 15% avec de légères variations entre les différents plasmides. Les transfections ont été répétées 5 fois. Les résultats obtenus montrent une différence significative entre le taux d'anomalies de noyaux observées entre le plasmide prélamine A sauvage et les plasmides mutés : p.Gly411Asp et p.Gly631Asp.

Ainsi, l'expression de prélamine A mutée reproduit transitoirement, dans différents types cellulaires, les anomalies nucléaires constatées chez les patients atteints de syndrome métabolique et porteurs de mutations dans le gène *LMNA*. Des expériences complémentaires visant à évaluer l'effet des mutations sur la cinétique de sénescence des cellules sont en cours.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #3364 : Les bases moléculaires du syndrome CAMOS revisitées

#### Auteurs :

Andre MEGARBANE (1), Julia Vodopiutz (2), Christel CASTRO (3), Mirna ASSOUM (4), Nicolas LEVY (5), Friedhelm Hildebrandt (6), Martin ZENKER (7), Andreas JANECKE (8), Valérie DELAGUE (9)

1. Unité de Génétique Médicale, Faculté de Médecine, Université Saint Joseph, , Beyrouth, Liban
2. Department of Pediatrics and Adolescent Medicine, Medical University of Vienna, , Vienne, Autriche
3. Inserm UMR\_S 910, GMGF, Aix Marseille Université, Marseille, France
4. Inserm UMR\_S 910, GMGF, Aix Marseille Université, MARSEILLE, France
5. Inserm UMR\_S 910, Département de Génétique Médicale, Hôpital d'Enfants de la Timone, AP-HM, MARSEILLE, France
6. Harvard Medical School, Boston Children's Hospital, Boston, Massachusetts, , Boston, Etats-Unis
7. Institute of Human Genetics, University Hospital, Magdeburg, Institute of Human Genetics, University of Erlangen, Erlangen, Germany, Magdeburg, Allemagne
8. Department of Pediatrics I, Medical University of Innsbruck, Division of Human Genetics, Medical University of Innsbruck, Innsbruck, Autriche
9. Inserm UMR\_S 910, GMGF, Aix Marseille Université, marseille, France

**Mots clefs :** CAMOS, ZNF592, WDR73; atrophie cérébelleuse, atrophie optique, Galloway-Mohat, homozygote, liaison

#### Résumé :

Nous avons décrit pour la première fois, en 2001, le syndrome CAMOS (Cerebellar Ataxia, Mental Retardation, Optic Atrophy and Skin abnormalities), une forme très rare d'ataxie congénitale, chez 5 patients d'une grande famille consanguine Druze libanaise. Les 5 patients présentaient une ataxie congénitale non progressive, une microcéphalie, une atrophie optique, une petite taille, des défauts du langage une atrophie cervelet, une déficience intellectuelle sévère et des anomalies ultrastructurales des vaisseaux de la peau, très rares. Une analyse de liaison par homozygotie par descendance (IBD), dans cette famille, nous avait permis de localiser, en 2002, le gène morbide sur le chromosome 15q24-q26, puis le criblage de gènes candidats dans la région, nous avait amené à identifier la mutation faux-sens p.Gly1046Arg homozygote dans le gène *ZNF592*, que nous avons, à l'époque décrite comme étant responsable du syndrome.

En collaboration avec des équipes allemandes et autrichiennes, nous avons récemment revisité les bases moléculaires du syndrome CAMOS, puisque nous avons identifié une seconde mutation faux-sens, p.His347Tyr, dans le gène *WDR73*, qui réside dans l'intervalle IBD, identifié dans la famille CAMOS. Des mutations dans *WDR73* ont été récemment associées au syndrome de Galloway-Mohat (GMS), une maladie à transmission autosomique récessive rare, caractérisée par un syndrome néphrotique associé à des désordres neurologiques et une microcéphalie. Notre étude, ainsi qu'une autre, montrent qu'en fait, le syndrome néphrotique, et même parfois, comme c'est le cas pour nos patients, une protéinurie simple, sont variablement présents chez les patients mutés dans *WDR73*. Cette observation a conduit à décrire les pathologies associées à *WDR73*, comme des syndromes nephro-cérébelleux, avec en fait une atteinte neurologique constante et une atteinte rénale variable.

Dans la famille CAMOS, l'identification de la mutation p.His347Tyr dans *WDR73* nous a amené à revisiter les bases moléculaires de ce syndrome. En effet, compte-tenu du fait qu'aucune mutation dans *ZNF592* n'a jamais été décrite depuis la publication, en 2002, du variant que nous croyions causal dans CAMOS, alors que près de 10 mutations sont aujourd'hui décrites dans *WDR73*, il semble probable que ce soit le gène *WDR73*, qui soit en cause dans CAMOS. Néanmoins, un rôle pour la mutation dans *ZNF592* dans la modulation du phénotype ou pour des aspects du phénotype CAMOS particuliers à CAMOS (anomalies des vaisseaux de la peau) semble probable, mais reste à démontrer.

En conclusion, nos résultats montrent, de façon très intéressante, que les stratégies de criblage de gènes candidats dans les intervalles homozygotes par descendance ont parfois conduit à la description d'un variant comme mutation pathogène, alors qu'en fait, il s'agit une variation rare nouvelle, en déséquilibre de liaison avec « la » mutation située dans un autre gène de l'intervalle.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

#3366 : VaRank: un outil de priorisation de variants dans le contexte du séquençage à haut débit.

### Auteurs :

Véronique Geoffroy (1), Cécile Pizot (2), Claire Redin (2), Amélie Piton (1), Nasim Vasli (2), Corinne Stoetzel (1), André Blavier (3), Jocelyn Laporte (1), Jean Muller (1)

1. , , STRASBOURG, France
2. Array, Array, Array,
3. , , Rouen, France

**Mots clefs** : SNV, indel, priorisation, mutation, séquençage à haut débit

### Résumé :

La plupart des pathologies d'origine génétique sont causées par des changements nucléotidiques touchant une ou plusieurs bases de l'ADN des patients. La révolution des technologies de séquençage à haut débit permet d'accéder au catalogue quasi exhaustif de ces variations de l'ADN incluant les polymorphismes (variations fréquentes à l'échelle d'une population), les variants rares dont certains sont impliqués dans le phénotype du patient. Néanmoins, la mise en évidence de la ou les variations causales chez le patient atteint d'une pathologie d'origine génétique reste une étape cruciale et compliquée pour le biologiste et le généticien confrontés aux milliers de variations désormais identifiées.

Afin de répondre en partie à cette question, nous avons développé VaRank, un outil simple en ligne de commande qui permet de prioriser les variants détectés par séquençage à haut débit. Après l'étape d'annotation réalisée par l'un des annotateurs suivants, Alamut Batch ou SnpEff, VaRank combine les informations collectées pour attribuer un score à chaque variation et ainsi hiérarchiser les résultats obtenus. Ainsi, le logiciel tient compte des bases de données de variants telles que dbSNP, l'Exome Variant Server, 1000 génomes ou encore ExAC dont les données de fréquence sont des éléments essentiels à l'analyse. De même la fréquence des variants au sein des patients étudiés par l'utilisateur est également rendue disponible. La présence d'un code barre permet à l'utilisateur en une seule analyse d'avoir accès au détail des statuts (hétérozygote, homozygote muté ou homozygote normal) de chacun des variants pour l'ensemble de sa cohorte de patients analysés. Outre les variations tronquantes plus facilement identifiables, la pathogénicité des variants faux sens est estimée à l'aide d'outils de prédiction tels que PolyPhen-2 et SIFT. Les mutations introniques ainsi que les mutations exoniques, synonymes ou non, sont testées pour leur effet sur l'épissage (création, disparition ou modification d'un site d'épissage).

VaRank a déjà été utilisé avec succès dans un contexte à la fois diagnostic et à la fois recherche. Ainsi plus de 1700 patients ont été analysés au moyen de panels de gènes comprenant de 10 à > 500 gènes, d'exomes cliniques et des exomes complets. De nouveaux gènes ont ainsi pu être identifiés ainsi que de nouvelles mutations pathogènes dans des gènes connus.

VaRank est implémenté en Tcl/Tk, un langage de script utilisable sur n'importe quel système d'exploitation. Supportant le format VCF, VaRank peut être facilement intégré au sein de pipelines bioinformatique d'analyses de variants. Son code source et la documentation sont disponibles sous licence GNU GPL à l'adresse suivante <http://www.lbgi.fr/VaRank>.

### #3368 : Développement du séquençage haut débit (NGS) pour la détection des mutations chez des patients atteints de sclérose tubéreuse de Bourneville

#### Auteurs :

Marie Claire Malinge (1), David Goudenege (1), Séverine Manceau (1), Carine Repussard (1), Vincent Procaccio (1)

1. Département de Biochimie Génétique, CHU Angers, Angers, France

**Mots clefs :** Séquençage haut débit Gènes TSC1 et TSC2 Sclérose tubéreuse de Bourneville

#### Résumé :

La sclérose tubéreuse de Bourneville (STB) est une maladie génétique autosomique dominante à expressivité variable due à des mutations dans deux gènes suppresseurs de tumeurs TSC1 (9q34) et TSC2 (16p13). Le diagnostic moléculaire était effectué jusqu'à ce jour à l'aide des techniques de DHPLC puis séquençage Sanger des exons à tracé modifié en DHPLC pour les gènes TSC1 et TSC2, puis la recherche de grands réarrangements par la technique MLPA (MRC Holland). Ces techniques nous ont permis d'identifier des mutations à l'état homogène mais aussi des mosaïques qui peuvent être aussi responsables de phénotypes STB typiques. Cependant, parmi les 1544 cas index, la mutation n'a pas été identifiée pour environ 1/3 des patients.

Nous avons développé la technique de séquençage haut débit pour la STB et créé un panel ciblé pour les gènes TSC1 et TSC2 afin de réétudier ces patients.

#### Patients et méthodes

Nous avons testé 384 patients par NGS dont la mutation avait été ou non identifiée par DHPLC et séquençage.

L'analyse NGS est réalisée à l'aide d'un Ion Proton (ThermoFisher) avec la technologie Ampliseq. Le panel ciblé couvre notamment tous les exons des gènes TSC1 et TSC2. Les mutations trouvées en NGS sont vérifiées par DHPLC puis séquençage.

Les résultats sont analysés grâce à un pipeline développé au CHU d'Angers afin d'être suffisamment sensible et de pouvoir détecter les mosaïques. Ce pipeline se décompose en 3 principaux modules: optimisation de l'alignement, détection des variants par une approche consensus basée sur 5 outils, annotation et priorisation des variants.

#### Résultats et discussion

Parmi les 384 patients, 214 portent une mutation à l'état homogène (100 substitutions, 20 ins/dup, 4 délins et 88 délétions de taille variable dont 33 grands réarrangements) et 44 portent une mosaïque (19 substitutions, 5 ins/dup, 1 délins et 18 délétions de taille variable dont 7 grands réarrangements)

Le taux de détection du NGS pour les patients préalablement testés par DHPLC, séquençage et MLPA est de 79 % pour les mutations homogènes et pour les mosaïques de 70.5%. Le seuil de détection des mosaïques analysées avec le pipeline actuel est estimé à environ 2%. L'amélioration de notre pipeline et surtout la recherche de grands réarrangements par notre pipeline (en cours de développement) nous permettra d'augmenter notre taux de détection.

Parmi les 126 patients sans mutation identifiée par DHPLC et séquençage, le NGS nous a permis de détecter une mosaïque pour 1 patient. La vérification des mosaïques suspectées en NGS pour d'autres patients est en cours.

L'avantage du NGS est la rapidité technique car les gènes TSC1 et TSC2 sont de grands gènes mais l'analyse nécessite un pipeline optimisé pour les mosaïques et grands réarrangements.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #3369 : Mutation faux-sens de novo du gène PACS2 chez deux patients avec déficience intellectuelle et dysmorphie faciale reconnaissable

#### Auteurs :

Nolwenn Jean-Marçais (1), Kate Tatton-Brown (2), Group DDD Study (3), Anne Faudet (4), Jean Donadiou (5), Delphine Héron (4), Jean-Baptiste Rivière (6), Ange-Line Bruel (7), Yannis Duffourd (8), Julien Thevenon (6), Laurence Faivre (6), Christel Thauvin-Robinet (6)

1. FHU-TRANSLAD, Centre de Génétique et Centre de Référence Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs de l'Interrégion Est, Centre Hospitalier Universitaire de Dijon, F-21079, Dijon, France
2. Southwest Thames Regional Genetics Centre, St George's Healthcare NHS Trust, Londres SW17 0RE, Royaume Uni
3. Deciphering Developmental Disorders Study, , , Royaume Uni
4. Département de Génétique et Centre de Référence "Déficiences intellectuelles de causes rares", La Pitié Salpêtrière, F-75651, Paris, France
5. Service d'Hématologie Pédiatrique, Hôpital Trousseau, Paris, France
6. GAD: EA4271 « Génétique des Anomalies du Développement » (GAD), FHU TRANSLAD, Université de Bourgogne; Centre Hospitalier Universitaire de Dijon, F-21079, Dijon, France
7. GAD: EA4271 « Génétique des Anomalies du Développement » (GAD), Université de Bourgogne, Dijon, France
8. GAD: EA4271 « Génétique des Anomalies du Développement » (GAD), FHU TRANSLAD, Université de Bourgogne; Centre Hospitalier Universitaire de Dijon, Dijon, France

**Mots clefs :** PACS2, déficience intellectuelle, nouveau gène

#### Résumé :

Les causes de déficience intellectuelle (DI) syndromique ou non syndromique sont multiples et d'identification souvent difficile car elles constituent un vaste ensemble de maladies rares ou exceptionnelles. En effet, en dehors des anomalies chromosomiques qui représentent la cause de 10 à 20% des DI, il existe plus de 3000 syndromes rares connus d'origine monogénique, dont un grand nombre incluent une DI. De nombreuses causes génétiques de DI sont actuellement inconnues. L'arrivée du séquençage haut débit d'exome (SHD-E) au cours des 5 dernières années a permis d'identifier de nombreux nouveaux gènes impliqués dans la DI, quels que soient l'atteinte clinique associée (syndromique ou non syndromique) et son mode de transmission (sporadique ou histoire familiale associée). Ces nouveaux gènes ont également permis de définir de nouveaux syndromes cliniques, dont la caractérisation clinique fine s'avère indispensable pour la pratique médicale.

Le SHD-E a identifié la même mutation faux-sens (p.Glu209Lys) à l'état hétérozygote *de novo* du gène *PACS2*, chez deux patients atteints de DI modérée avec une dysmorphie faciale semblable reconnaissable (pointe du nez bulbeuse, grande bouche, lèvre supérieure fine et lèvre inférieure éversée). Le bilan polymalformatif s'est avéré normal. Un des patients présentait une neutropénie modérée permanente associée. Cette mutation touche un acide aminé hautement conservé d'un domaine acide constitué d'acides aminés ramifiés, faisant suspecter un changement de polarité et de conformation de la protéine.

Le gène *PACS2* code pour une protéine, exprimée majoritairement au niveau du cerveau, du cœur, du rein, du pancréas et des testicules, qui participe au contrôle des échanges entre le réticulum endoplasmique (RE) et la mitochondrie, ainsi qu'à l'homéostasie du RE et à l'induction de l'apoptose. Des études cellulaires ont montré que la dissociation de *PACS2* aboutit à une dissociation du RE et une fragmentation des mitochondries, de même qu'une perturbation de l'apoptose médiée par tBid. *PACS2* est également un paralogue important du gène *PACS1* (54% de séquence identique), qui a déjà été rapporté en pathologie humaine et notamment chez des patients atteints de DI suite à une mutation localisée dans le domaine FBR (Furin Binding Region) de la protéine. Dans le tissu cérébral, *PACS2* est exprimé préférentiellement au niveau de la substance blanche enrichie en cellules gliales tandis que *PACS1* est exprimé préférentiellement au niveau neuronal.

Ces données permettent de considérer *PACS2* comme un probable nouveau gène responsable de DI cliniquement reconnaissable et nécessitent d'être confortées par l'identification de nouveaux patients semblables.

### #3370 : Apports de la technologie NGS dans la détection et quantification des mutations de l'ADN mitochondrial dans les pathologies mitochondriales.

#### Auteurs :

Céline Bris (1), David Goudenege (1), Valérie Desquirit - Dumas (1), Naïg Gueguen (1), Matthieu Arvier (2), Patrizia Bonneau (1), Pascal Reynier (1), Vincent Procaccio (1)

1. Département de biochimie et génétique, CHU d'Angers, Angers, France
2. Cellule qualité, pôle de biologie hospitalière, CHU d'Angers, Angers, France

**Mots clefs :** NGS, ADN mitochondrial, quantification hétéroplasmie

#### Résumé :

Les maladies mitochondriales sont des pathologies fréquentes du métabolisme caractérisées par une forte hétérogénéité clinique et génétique. Les anomalies moléculaires responsables de ces pathologies peuvent survenir sur des gènes codés par l'ADN nucléaire mais aussi par l'ADN mitochondrial (ADNmt). De plus, ces anomalies moléculaires de l'ADNmt peuvent être présentes à l'état hétéroplasmique, c'est-à-dire coexister avec des molécules sauvages dans des proportions variables en fonction des tissus et des pathologies. La double origine génétique et le concept d'hétéroplasmie sont à l'origine de la complexité du diagnostic des maladies mitochondriales.

Nous avons réalisé le séquençage total de l'ADNmt de 2120 échantillons à l'aide d'un séquenceur Ion Proton (ThermoFischer). Les données générées ont été analysées à l'aide de notre propre pipeline bio-informatique qui contient 3 modules : un de « calling » des variants intégrant 6 outils différents, un d'annotation et un de priorisation. Pour une partie des échantillons nous disposons des données de séquençage de l'ADNmt par Sanger (n=39), de la quantification de mutations ponctuelles par PCR fluorescente/restriction (n=89).

Nous avons estimé les limites de détection (2,2%) et de quantification (6,6%). La comparaison des variants obtenus en Sanger et NGS nous a permis d'évaluer la sensibilité (95,6%) et la spécificité (99,9%) de la technique. Les taux de faux positifs et faux négatifs sont respectivement de 12,6% et 0,01%. Ensuite, nous avons évalué la capacité du NGS à quantifier les mutations ponctuelles. On observe une bonne corrélation entre les résultats de PCR fluorescente/restriction et NGS pour les 8 mutations communes testées, avec néanmoins une légère surestimation de l'hétéroplasmie en NGS ( $y=0,9825 + 2,616x$ ;  $R^2 = 0,98$ ). Les analyses réalisées montrent également que la quantification de l'hétéroplasmie par NGS est répétable (CV: 2,4%) et reproductible (CV: 0,9% à 8,6%).

L'analyse systématique de l'ADNmt a permis l'identification de mutations pathogènes dans des formes atypiques mais aussi de découvertes incidentales notamment pour des mutations communes responsables de neuropathie optique ou de surdité mitochondriale. La mutation m.1555A > G responsable de surdité affectant l'ARN ribosomal 12S est retrouvée communément, notamment à l'état hétéroplasmique. Ces mutations de pénétrance incomplète ont la particularité d'être influencées par des facteurs environnementaux (antibiotiques, tabac, alcool...) appartenant d'une certaine manière au groupe de mutations possiblement « actionnables », avec un conseil génétique avisé et une éviction des facteurs de risques.

Notre technologie NGS associée à notre pipeline d'analyse permet donc la détection et la quantification des mutations de l'ADNmt de manière spécifique et sensible. Cette technique permet ainsi de répondre à la fois aux exigences du diagnostic et montre l'intérêt du criblage systématique de l'ADNmt dans les pathologies mitochondriales.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

**#3371 : Cani-DNA : une biobanque française pour la collecte et la distribution d'échantillons d'ADN de chiens, modèles spontanés de maladies génétiques humaines**

### Auteurs :

Laëtitia Lagoutte (1), Amaury VAYSSE (2), Nadine BOTHEREL (2), Gilles CHAUDIEU (3), Florent ROLLIN (2), Philippe PILORGE (4), Benoît Hedan (5), Patrick Devauchelle (6), Clotilde de Brito (1), Eric GUAGUERE (7), Jérôme Abadie (8), Laëtitia HERBIN (9), Anne THOMAS (10), Catherine André (1)

1. Equipe "Génétique du chien" - IGDR, UMR6290/CNRS/Université de Rennes 1, Rennes, France
2. Equipe "Génétique du chien" - IGDR, UMR6290/CNRS/Université de Rennes 1, RENNES, France
3. , Clinique vétérinaire Beaulieu, Chamalières, France
4. , Clinique vétérinaire St-Cyr, RENNES, France
5. Equipe , UMR6290/CNRS/Université de Rennes 1, Rennes, France
6. , MICEN VET, Créteil, France
7. , Clinique vétérinaire St Bernard, LOMME, France
8. LUNAM University, ONIRIS, AMaROC, Ecole Nationale Vétérinaire, Agroalimentaire et de l'Alimentation Nantes Atlantique, Nantes, France
9. Equipe , UMR6290/CNRS/Université de Rennes 1, RENNES, France
10. Laboratoire de génétique animale, ANTAGENE, LA tour de Salvagny, France

**Mots clefs :** Biobanque, chien, réseau

### Résumé :

Récemment, la communauté scientifique s'est intéressée au chien comme modèle spontané pour analyser les composantes génétiques de maladies homologues humaines rares et/ou complexes. Ces quinze dernières années, notre équipe s'est investie dans le développement d'outils en bioinformatique et génétique moléculaire dédiés au génome du chien. En parallèle, nous avons mis en place une biobanque de prélèvements canins, Cani-DNA, permettant ainsi la collecte de prélèvements d'individus atteints et de témoins indemnes. Cette ressource, développée au CNRS de Rennes depuis 2003, s'est appuyée sur un réseau vétérinaire national, incluant les praticiens, les laboratoires d'histopathologie vétérinaire et d'analyses, les cliniques et hôpitaux spécialisés, les centres de cancérologie et d'imagerie. Depuis 2012, une convention cadre établie par le CNRS de Rennes, avec les 4 Ecoles Nationales Vétérinaires (ENV : Alfort, Nantes, Lyon, Toulouse) et la société de génétique animale Antagene (Lyon) donne une dimension nationale à cette bio-banque. De plus, Cani-DNA fait partie intégrante du projet CRB-Anim, débuté en 2012 : projet français, financé dans le cadre des «Projets Investissements d'avenir» PIA1, ayant pour objectif de rassembler des Biobanques animales.

Cani-DNA contient des prélèvements de sang et de tissus de chiens de toutes races, accompagnés de leurs données généalogiques, phénotypiques et cliniques. L'objectif principal est d'extraire les ADN et ARN à partir de ces prélèvements et de stocker les échantillons correspondants, pour les distribuer, après contrôles qualités.

À ce jour, Cani-DNA contient 21 000 échantillons d'ADN extraits à partir de sang dont 13 000 ADN stockés sur le site rennais, 6000 à Antagene et 2000 dans les ENV. Plus de 1500 échantillons de tissus (paires de tissus tumoraux/tissus sains) sont disponibles pour les projets de cancérologie comparée. Cette ressource représente environ 300 races de chiens, et plus d'une centaine de maladies génétiques homologues humaines, (nombreux cancers, comme des mélanomes, sarcomes, lymphomes, gliomes...) ainsi que de nombreuses maladies « monogéniques ». Les prélèvements correspondants à ces maladies souvent rares chez l'Homme, mais fréquentes dans une race canine donnée, constituent une ressource originale de modèles spontanés de maladies rares humaines, comme par exemple les génodermatoses, neuropathies, épilepsies, rétinopathies, anomalies du développement. La base de données constitue également une ressource épidémiologique pour toutes ces maladies canines.

Cette banque de prélèvements de chiens, unique en France, est disponible pour la communauté scientifique nationale et internationale pour des projets en génétique humaine et vétérinaire et est actuellement utilisée et distribuée dans le cadre de projets collaboratifs français, européens et américains.

Des échantillons sont disponibles sur demande sur le site <http://dog-genetics.genouest.org> et à l'adresse : cani-dna@univ-rennes1.fr.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

#3372 : Syndrome de Marfan sans mutation codante dans *FBN1* : nouveaux variants dans le promoteur

### Auteurs :

Louise Benarroch (1), Rayann Checric (1), Pauline Arnaud (2), Mélodie Aubart (1), Marie-Sylvie Gross (1), Mathilde Varret (1), Mathier Barbier (1), Sandy El Bitar (1), Youmna Ghaleb (1), Jacob Marie-Paule (1), Nadine Hanna (2), Olivier Milleron (3), Laurent Gouya (3), Maud Langeois (3), Myrtille Spentchian (3), Guillaume Jondeau (3), Catherine Boileau (1)

1. LVTS, INSERM U1148, Paris, France
2. Département de génétique, CHU X. Bichat, Paris, France
3. Centre de référence national syndrome de Marfan et syndromes apparentés, CHU X. Bichat, Paris, France

**Mots clefs :** Syndrome de Marfan, fibrilline-1, promoteur

### Résumé :

Le syndrome de Marfan (MFS) est une maladie génétique rare à transmission autosomique dominante. Il est défini par une atteinte plurisystémique notamment cardiovasculaire (anévrisme et dissection de l'aorte thoracique ascendante), oculaire (ectopie du cristallin), squelettique (grande taille et envergure, scoliose, arachnodactylie, etc.), cutanée, pulmonaire et neurologique. Chez 90% des patients atteints de MFS, une mutation est retrouvée dans la séquence codante du gène de la fibrilline-1 (*FBN1*), composante majeure des microfibrilles de la matrice extracellulaire. A partir d'une cohorte de 36 individus remplissant les critères cliniques du MFS sans mutation identifiée dans le gène *FBN1* ni dans les autres gènes connus pour être impliqués dans les anévrismes de l'aorte ascendante, une étude a été réalisée à la recherche d'un variant rare dans le promoteur du gène *FBN1*. Le promoteur du gène *FBN1* est composé de 3 exons (A, B et C), épissés alternativement avec un biais important pour l'utilisation de l'exon A. L'hypothèse était qu'une mutation dans le promoteur du gène *FBN1* pouvait affecter l'expression de celui-ci, entraînant une haplo-insuffisance et le phénotype MFS observé. Des mutations dans le promoteur ont déjà été montrées comme à l'origine d'une déficience en glycosylphosphatidylinositol ou d'une hémochromatose sévère. Le séquençage de 1796 bases du promoteur du gène *FBN1* (1729 bases en amont de l'ATG+1) a donc été réalisé chez les 36 individus. Ce séquençage a permis de retrouver deux variants rares (c.-83G > A et c.-182+212G > C) jamais décrits dans les bases de données. Le variant c.-83G > A retrouvé chez un des patients provoque la formation d'un codon ATG en amont de l'ATG+1. Les algorithmes de prédiction (*ATGpr Algorithms*, *DNA TIS Miner*) ont permis de confirmer que l'apparition du variant créait un site ATG utilisable et préférentiel par rapport au codon ATG+1. L'utilisation de cet ATG décalerait le cadre de lecture et conduirait à l'apparition d'un codon STOP prématuré. Le variant c.-182+212G > C retrouvé chez un 2ème patient a également été retrouvé chez son frère atteint. Il a été prédit par les algorithmes du site Human Splicing Finder comme pouvant altérer l'épissage alternatif par la création et la cassure de sites potentiellement *enhancers* et *silencers* (*Intronic Splicing Enhancer* et *Intronic Splicing Silencer*, ISE/ISS) et serait à l'origine de la création d'un site régulateur d'épissage exonique. L'altération de l'épissage alternatif entraînerait un biais en faveur de l'utilisation de l'exon C dont l'activité transcriptionnelle n'a pas été démontrée, et donc une diminution de l'expression de *FBN1*. Des études fonctionnelles sur les cellules des 2 patients sont en cours pour démontrer l'haplo-insuffisance et la pathogénicité de ces 2 variants.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #3375 : Facteurs régulateurs de l'expression de la fibrilline-1 et variabilité clinique dans le syndrome de Marfan

#### Auteurs :

Louise Benarroch (1), Mélodie Aubart (1), Marie-Sylvie Gross (1), Nadine Hanna (2), Marie-Thérèse Zobot (3), Marc Sznajder (4), Delphine Détaint (5), Laurent Gouya (5), Guillaume Jondeau (5), Catherine Boileau (1), Chantal Stheneur (5)

1. LVTS, INSERM U1148, Paris, France
2. Département de génétique, CHU X. Bichat, Paris, France
3. Laboratoire de biotechnologies cellulaires, Groupement hospitalier est, Hospices civils de Lyon, Lyon, France
4. Service de pédiatrie, APHP, Paris, France
5. Centre de référence national syndrome de Marfan et syndromes apparentés, CHU X. Bichat, Paris, France

**Mots clefs :** Syndrome de Marfan, fibrilline-1, facteurs régulateurs, variabilité

#### Résumé :

Le syndrome de Marfan (MFS) est une maladie génétique rare (1/5000 sujets), à transmission autosomique dominante, en relation majoritairement avec des mutations dans le gène codant pour la fibrilline 1 (*FBN1*). L'atteinte est plurisystémique touchant notamment le système oculaire (ectopie du cristallin), squelettique (grande taille et envergure, scoliose, arachnodactylie, etc.), cardio-vasculaire (anévrisme de l'aorte thoracique ascendante et dissection aortique), cutané, pulmonaire et neurologique. Ce syndrome est caractérisé par une très grande variabilité clinique, inter- et intrafamiliale, concernant aussi bien l'âge de début des symptômes que l'évolution, la gravité ou le nombre de systèmes atteints. A ce jour, aucun facteur modificateur ni aucune relation génotype/phénotype (en dehors de mutations faux-sens dans les exons 24 à 32 à l'origine des formes rares de MFS néonatal) n'ont pu être montrés comme étant à l'origine de cette variabilité. Les mutations dans le gène *FBN1* sont associées à 2 mécanismes : la dominance négative et l'haplo-insuffisance. L'hypothèse selon laquelle il existerait dans les cas d'haplo-insuffisance une variabilité d'expression du gène *FBN1* responsable de la variabilité phénotypique a été testée. Le niveau d'expression de *FBN1* a été quantifié par RT-qPCR à partir de cultures primaires de fibroblastes cutanés de 80 sujets sains et de 80 sujets MFS porteurs de mutations tronquantes dans le gène *FBN1*. Cette quantification a montré qu'il existait une variabilité d'expression de *FBN1* d'un facteur 4 chez les contrôles ainsi que chez les sujets MFS. De plus, le niveau d'expression de *FBN1* chez les sujets MFS haplo-insuffisants était statistiquement associé à la sévérité de certains signes cliniques (ectopie du cristallin). L'étude de l'expression allélique a permis de montrer une expression concertée des allèles chez les contrôles et une absence d'expression de l'allèle muté chez les sujets MFS. L'expression concertée des allèles suggérait l'existence d'un ou plusieurs facteurs modificateurs de l'expression de *FBN1* situés en *trans* du gène et capables de co-réguler les deux allèles. Dans cette optique, une analyse eQTL (*expression Quantitative Trait Loci*) a été réalisée, consistant à effectuer un test d'association entre les niveaux d'expression des 80 sujets MFS haplo-insuffisants et les résultats d'un génotypage pangénomique. Cette étude a permis d'identifier un locus statistiquement associé à l'expression de *FBN1* ( $p$ -valeur =  $6.10^{-8}$ ). Ce *trans*-eQTL, localisé sur le chromosome 11, contient un gène et un pseudogène. Des études sont en cours pour identifier les mécanismes régulateurs sous-jacents. La compréhension des mécanismes régulateurs que pourrait exercer le locus *trans*-eQTL sur le locus du gène *FBN1* pourrait permettre d'identifier les facteurs à l'origine de la variabilité phénotypique.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

#3376 : Séquençage Nouvelle Génération : entre puissance diagnostique et polémique.

### Auteurs :

Pierre-Antoine Rollat-Farnier (1), Céline Vernin (2), Nicolas Chatron (3), Marianne Till (1), Audrey Labalme (1), Claire Bardel (4), Caroline Schluth-Bolard (3), Gaetan Lesca (3), Pascal Roy (5), Christel Thauvin-Robinet (6), Laurence Faivre (6), Damien Sanlaville (3)

1. Laboratoire de Cytogénétique Constitutionnelle, HCL, LYON - France, Lyon, France
2. Laboratoire de Cytogénétique Constitutionnelle, , Lyon, France
3. Laboratoire de Cytogénétique Constitutionnelle, HCL, Equipe TIGER, CRNL, UCBL1, U1028 INSERM, UMR 5292 CNRS - LYON - France, Lyon, France
4. Service de Biostatistique et plateforme de séquençage NGS, HCL, CNRS, UMR5558, Laboratoire de Biométrie et Biologie Evolutive, Equipe Biostatistique-Santé, Université Lyon 1, Villeurbanne , Lyon, France
5. Service de Biostatistique, HCL, CNRS, UMR5558, Laboratoire de Biométrie et Biologie Evolutive, Equipe Biostatistique-Santé, Université Lyon 1, Villeurbanne , Lyon, France
6. Centre de Génétique, CHU de Dijon, Dijon, France

**Mots clefs :** NGS, WGS, Exome, Diagnostic

### Résumé :

Grâce aux avancées technologiques de ces dernières années, le Séquençage de Nouvelle Génération (NGS) permet d'accéder au génome d'un patient en quelques jours pour des coûts de quelques milliers d'euros. Il constitue ainsi un outil puissant pour déterminer les bases génétiques d'une maladie, ce qui explique son transfert progressif dans les laboratoires de diagnostic.

En termes de perspectives, le choix de la technologie est une préoccupation stratégique. Le séquençage complet du génome (WGS) permet de détecter l'ensemble des variations génomiques, mais est surtout utilisé pour les variants de structure (SV) et les CNV. En revanche, le WGS est moins adapté à la détection de SNV, qui nécessite une profondeur de séquençage plus importante. Les techniques de capture permettent quant à elles d'obtenir ces profondeurs, mais présentent d'autres contraintes (manque d'homogénéité et de reproductibilité, panels de gènes rapidement obsolètes etc.). Dans tous les cas, les milliards de nucléotides séquencés induisent des difficultés d'interprétations médicales suite au nombre croissant de variants révélés par ces techniques. Le NGS reste une technologie coûteuse qui présente des surcoûts (indirects) non négligeables. En effet, il nécessite d'importantes ressources de stockage et de calcul, des biologistes formés à l'utilisation de bases de données, des bioinformaticiens, ainsi que du temps, afin d'extraire les informations pertinentes et rendre un résultat aux patients.

Le NGS pose également des problèmes d'éthique, similaires à ceux identifiés lors du transfert en diagnostic de l'ACPA, telle que la mise en évidence d'informations génétiques sans lien avec l'indication médicale initiale. Pour limiter ce problème, il est possible d'être plus stringent et de limiter le nombre de variants à interpréter, mais peut-on ignorer des informations qui pourraient affecter la santé du patient ou de sa famille ? Par exemple, l'*American College of Medical Genetics and Genomics* préconise la recherche systématique de variants concernant 56 gènes pour lesquels une « action » est envisageable. Cette recherche imposée au patient est particulièrement controversée, car pour ses détracteurs, elle lui ôte son pouvoir décisionnel.

En conclusion, le NGS est un outil révolutionnaire et puissant, que de très nombreux laboratoires transfèrent en routine diagnostique. Toutefois, il ne faut pas en omettre les coûts indirects et les problèmes éthiques induits.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #3379 : Etude fonctionnelle de variants d'épissage du gène Tyrosinase responsable de l'AOC de type 1 par l'approche des minigènes

#### Auteurs :

Marie-Laure Vuillaume (1), Eulalie Lasseaux (1), Claudio Plaisant (1), Lopez Estelle (2), Benoit Arveiler (1), Patricia Fergelot (1)

1. Service de Génétique Médicale, CHU Bordeaux, Bordeaux, France
2. Laboratoire Maladies Rares Génétique et Métabolisme , Université Bordeaux, Bordeaux, France

**Mots clefs :** Albinisme oculocutané, Tyrosinase, épissage, minigènes

#### Résumé :

L'albinisme oculo-cutané (AOC) est une pathologie génétique rare de transmission autosomique récessive causée par un défaut de synthèse de la mélanine et caractérisé par une réduction généralisée de la pigmentation des cheveux, de la peau et des yeux, et des anomalies ophtalmologiques. Le gène le plus fréquemment muté dans l'AOC est le gène *TYR* (environ 35% de cas) codant pour une enzyme, la tyrosinase, ayant une activité catalytique tyrosine hydroxylase et dopa-oxydase indispensable à la mélanogénèse. Les mutations dans ce gène entraînent une perte totale ou partielle de l'activité catalytique de la tyrosinase et sont responsables de l'AOC de type 1, forme la plus sévère d'AOC. Sur les 249 mutations répertoriées dans la base de données *HGMD Biobase*, 3.7 % sont des variants d'épissage, la plupart récurrents et dont l'effet *in vivo* sur l'épissage reste, pour la plupart d'entre eux, à caractériser. Notre stratégie d'étude vise, dans un premier temps, à réaliser une analyse *in silico* de ces variants à l'aide de logiciels de prédiction tels que *Human Splicing Finder* ou *MAxEntScan* dont l'utilisation a été recommandée par les groupes de travail de l'ANPGM. Néanmoins, la validation fonctionnelle de ces prédictions par l'analyse directe des ARNm (RT-PCR) reste difficile, dans le contexte de l'AOC, du fait de l'expression très restreinte de *TYR* à la peau et à l'épithélium pigmentaire de l'œil, tissus non accessibles dans le cadre actuel du bilan diagnostique d'un patient AOC. Nous avons donc mis en place des tests *ex vivo* d'épissage avec la stratégie des minigènes. Ces minigènes ont été construits à partir de l'ADNg de 4 patients OCA1 porteurs de 5 variants introniques annotés pathogènes dans la base de données *HGMD* et d'1 polymorphisme. Un des patients était porteur de deux de ces variants en trans. Après obtention d'une banque de clones des variants d'épissage et des séquences sauvages correspondantes à l'aide du vecteur de clonage Topo, nous avons sous-cloné nos fragments d'intérêt dans le vecteur d'expression pSPL3B. Ces constructions ont ensuite été transfectées dans les cellules HeLa et les ARNm hybrides produits ont été analysés par RT-PCR, électrophorèse en gel d'agarose et séquençage Sanger. Nous avons retrouvé un saut d'exon pour trois de ces variants, l'activation d'un site cryptique et l'utilisation d'un site *de novo* pour deux autres variants, conformément aux hypothèses formulées à l'aide des logiciels de prédiction, et aucun effet sur l'épissage pour le polymorphisme. Ces tests fonctionnels nous ont permis de valider, dans une lignée cellulaire d'utilisation aisée, les prédictions *in silico* pour les 6 variants introniques testés qu'ils soient situés au niveau ou à distance des sites consensus d'épissage des introns 1, 2 et 3 du gène *TYR*, montrant ainsi l'intérêt du système minigènes comme aide au diagnostic moléculaire de l'AOC de type 1.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #3382 : Approche Next Generation Sequencing (NGS) pour le diagnostic moléculaire de la maladie de Charcot-Marie-Tooth

#### Auteurs :

Sarah Louis-Léonard (1), Sandrine Tardieu (2), Isabelle David (3), Guillaume Banneau (3), Laure Raymond (3), Cécile Cazeneuve (3), Tanya Stojkovic (1), Eric Leguern (4)

1. Centre National de Référence des pathologies neuromusculaires de l'Est Parisien, Pôle des maladies du système nerveux, AP-HP, Hôpitaux Universitaires La Pitié Salpêtrière-Charles Foix, Paris, France
2. UF de Neurogénétique Moléculaire et Cellulaire, département de génétique, AP-HP, Hôpitaux Universitaires La Pitié Salpêtrière-Charles Foix, Paris, France
3. UF de Neurogénétique Moléculaire et Cellulaire, Département de Génétique, AP-HP, Hôpitaux Universitaires La Pitié Salpêtrière-Charles Foix, Paris, France
4. UF de Neurogénétique Moléculaire et Cellulaire, Département de Génétique, AP-HP, Hôpitaux Universitaires La Pitié Salpêtrière-Charles Foix, Paris, France

**Mots clefs :** NGS Charcot-Marie-Tooth diagnostic

#### Résumé :

L'Unité Fonctionnelle de Neurogénétique réalise le diagnostic moléculaire de la maladie de Charcot-Marie-Tooth (CMT) qui est la plus fréquente des neuropathies périphériques héréditaires. Le CMT est une neuropathie sensitivo-motrice qui touche l'extrémité des membres. L'examen clinique et électrophysiologique permet de distinguer le CMT démyélinisant, le CMT axonal et le CMT spinal (avec atteinte motrice uniquement). Le CMT est l'archétype des maladies héréditaires génétiquement hétérogènes avec différents modes de transmission, autosomique dominant et récessif ou lié à l'X. Jusqu'à présent, après avoir exclu la duplication du gène *PMP22* fréquemment rencontrée (70%) dans le CMT démyélinisant (CMT1A), l'exploration des patients se limitait à l'analyse par séquençage Sanger de 3 ou 4 gènes les plus fréquemment impliqués dans la forme de CMT définie par la clinique et l'électrophysiologie. L'émergence du séquençage haut-débit permet d'envisager des stratégies plus ambitieuses visant à explorer, de façon plus rapide et moins coûteuse, un plus grand nombre de gènes. Aujourd'hui nous mettons en place une approche NGS qui permet l'analyse de 40 gènes. Nous avons choisi d'analyser les différentes formes de CMT par un seul panel car il existe des formes frontières entre le CMT démyélinisant et le CMT2 axonal (formes intermédiaires) et entre le CMT axonal et le CMT spinal. Ainsi, pour chaque patient testé, nous analyserons un sous-groupe de gènes en fonction de son phénotype. Nous utilisons la technique QXT de chez Agilent. Le panel de 40 gènes représente 134 kb et comporte 640 régions ciblées correspondant aux exons et aux jonctions exons-introns incluant 20 nucléotides introniques. Le séquençage est effectué sur un MiSeq (Illumina) et l'analyse bioinformatique des variants est réalisée avec le logiciel SureCall (Agilent) et celui développé avec la société GenoDiag (ICM, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Paris).

Les tests réalisés sur 38 patients ont montré une couverture et une profondeur (< 30X) insatisfaisante pour moins d'une dizaine de régions. Les patients sélectionnés étaient tous porteurs d'une mutation qui avait été préalablement identifiée en séquençage Sanger (gènes *PMP22*, *MPZ*, *GJB1*, *GDAP1*, *SH3TC2*, *LITAF*, *MFN2*, *GARS*). Nous avons choisi de tester préférentiellement des petites insertions et délétions qui sont réputées pour être les plus difficiles à caractériser en NGS. Les mutations de tout type ont été détectées. Les résultats de ces tests montrent que ce panel peut être utilisé en diagnostic.

Avec l'apport du NGS, on peut penser identifier la(es) mutation(s) causale(s) dans un nombre plus élevé de patients avec un CMT et aussi pour certains de mieux comprendre leur phénotype particulier par l'identification de variant dans plusieurs gènes du panel. Les études familiales de ségrégation ainsi que les corrélations phénotype-génotype seront donc primordiales pour optimiser le diagnostic et le conseil génétique du patient.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #3385 : Utilisation du séquençage d'exome dans le diagnostic génétique d'atrophie cérébelleuse à début précoce dans une population consanguine

#### Auteurs :

Michael NICOULEAU (1), Hisham MEGAHED (2), Giulia BARCIA (3), Christine BOLE-FEYSOT (1), Patrick NITSCHKE (1), Daniel MEDINA CANO (1), Marlène RIO (1), Nadia BAHI-BUISSON (1), Isabelle DEGUERRE (1), Arnold MUNNICH (1), Nathalie BODDAERT (1), Laurence COLLEAUX (1), Vincent CANTAGREL (1)

1. Institut Imagine, Hôpital Necker, PARIS, France
2. , National Research Centre, LE CAIRE, Égypte
3. , Hôpital Necker, PARIS, France

**Mots clefs :** atrophie cérébelleuse, hypoplasie cérébelleuse, déficiences intellectuelles, WES, cervelet

#### Résumé :

L'atrophie et l'hypoplasie du cervelet sont retrouvées en neuroradiologie chez le jeune enfant avec ataxie cérébelleuse, associée à un déséquilibre moteur, une coordination altérée et un retard de développement. Les enfants atteints d'atrophie cérébelleuse héréditaire présentent un tableau clinique et génétique hétérogène qui inclut un nombre important de diagnostics différentiels impliquant un chevauchement clinique avec les déficiences intellectuelles et les épilepsies.

Les causes les plus fréquentes d'atrophie cérébelleuse incluent des troubles mitochondriaux, les céréoïde-lipofuscinoses neuronales, des troubles congénitaux de la glycosylation, les ataxies télangiectasies et des dystrophies neuro-axonales de l'enfant. En association avec une primo-évaluation clinique prudente, l'identification d'atrophie cérébelleuse par IRM est actuellement utilisée pour prioriser les investigations et établir un diagnostic potentiel.

Ces atrophies cérébelleuses incluent un nombre toujours croissant de phénotypes et on compte aujourd'hui plus de 169 descriptions cliniques OMIM. L'hétérogénéité des phénotypes ainsi que leur chevauchement empêche d'établir un diagnostic clinique et génétique précis. Pour plus de la moitié des enfants avec atrophie cérébelleuse, aucun diagnostic moléculaire n'est disponible, suggérant l'existence de nouvelles causes génétiques à identifier dans de nombreux cas.

Dans une telle situation, le WES peut accélérer le diagnostic moléculaire au début de la maladie. Il permet de mieux définir le spectre clinique associé à un défaut génétique spécifique et ainsi apporter au patient une prise en charge adaptée.

Dans cette étude, nous avons étudié une cohorte de 18 familles Égyptienne avec atrophie cérébelleuse de l'enfant. Nous avons analysé ces familles pour détecter les variants récessifs et dominants. Nous avons pu identifier des mutations pathologiques pour la moitié des familles (9/18), incluant une présentation atypique de déficit en cofacteur du molybdène et une mutation dominante récurrente dans le gène *KIF1A*. Nous avons également identifié, des variants causatifs potentiels dans des gènes non précédemment décrits.

Cette étude a permis d'élargir le spectre clinique de certaines de ces pathologies, de souligner l'importance de la recherche de mutations dominantes dans les familles consanguines et d'identifier de nouveaux gènes candidats.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #3388 : Spectre hypertrophique lié à PIK3CA (PROS) : rendement diagnostique et bases moléculaires

#### Auteurs :

Paul Kuentz (1), Jean-Baptiste Rivière (1), Thibaud Jouan (1), Jeanne Amiel (2), Daniel Amram (3), Stéphanie Arpin (4), Tania Attie-Bitach (2), Nadia Bahi-Buisson (5), Geneviève Baujat (2), Didier Bessis (6), Odile Boute (7), Anne-Claire Bursztein (8), Christine Chiaverini (9), Valérie Cormier-Daire (10), Christine Coubes (11), Bruno Delobel (12), Patrick Edery (13), Salima El Chehadah (14), Mélanie Fradin (15), Christine Francannet (16), Alice Goldenberg (17), Smaïl Hadj-Rabia (18), Damien Haye (19), Bertrand Isidor (20), Marie-Line Jacquemont (21), Hubert Journal (22), Philippe Khau Van Kien (23), Ludovic Martin (24), Jelena Martinovic (25), Annabel Maruani (26), Michèle Mathieu (27), Juliette Mazereeuw-Hautier (28), Caroline Michot (29), Cyril Mignot (30), Fanny Morice-Picard (31), Florence Petit (7), Alice Phan (32), Renaud Touraine (33), Alain Verloes (34), Marie Vincent (20), Marjolaine Willems (11), Laurence Favre (35), Pierre Vabres (36)

1. Laboratoire de génétique chromosomique et moléculaire, Plateau Technique de Biologie, CHU Dijon, Dijon, France
2. Laboratoire de Génétique moléculaire, APHP, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
3. Unité de génétique clinique, CHI de Créteil, Créteil, France
4. Service de Génétique clinique, CHRU de Tours, Tours, France
5. Unité fonctionnelle de Neurologie, APHP, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
6. Département de dermatologie, CHRU de Montpellier, Montpellier, France
7. Service de génétique clinique Guy Fontaine, CHRU de Lille, Lille, France
8. Service de dermatologie, CHU de Nancy, Nancy, France
9. Service de dermatologie, CHU de Nice, Nice, France
10. Laboratoire de Génétique moléculaire, APHP, Hôpital Necker-Enfants Malades, , France
11. Département de génétique médicale, CHRU de Montpellier, Montpellier, France
12. Centre de Génétique Chromosomique, GH de l'Institut Catholique de Lille, Lille, France
13. Service de génétique clinique, CHU de Lyon, Lyon, France
14. Service de génétique médicale, CHU de Strasbourg, Strasbourg, France
15. Service de génétique clinique, CHU de Rennes, Rennes, France
16. Service de génétique médicale, CHU de Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, France
17. Unité de génétique clinique, CHU de Rouen, Rouen, France
18. Service de dermatologie, APHP, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
19. Service de Pédiatrie, CHRU de Tours, Tours, France
20. Unité de Génétique clinique, CHU de Nantes, Nantes, France
21. Unité de génétique médicale, CHU de la Réunion, Saint-Pierre, France
22. Unité de génétique, CH Bretagne Atlantique, Vannes, France
23. Unité de Génétique Médicale et Cytogénétique, CHU de Nîmes, Nîmes, France
24. Service de dermatologie, CHU d'Angers, Angers, France
25. Unité fonctionnelle de Fœtopathologie, APHP, Hôpital Antoine Béclère, Paris, France
26. Service de Dermatologie, CHRU de Tours, Tours, France
27. Centre d'activité de génétique clinique et oncogénétique, CHU d'Amiens, Amiens, France
28. Service de dermatologie, CHU de Toulouse, Toulouse, France
29. Service de Génétique Médicale, APHP, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
30. Département de Génétique, UF de Génétique Clinique; Centre de Référence Déficiences Intellectuelles de Causes Rares, APHP, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France
31. Service de génétique médicale, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France
32. Service de dermatologie, CHU de Lyon, Lyon, France
33. Service de génétique clinique chromosomique et moléculaire, CHU de Saint-Etienne, Saint-Priest-En-Jarez, France
34. Unité fonctionnelle de génétique clinique, APHP, Hôpital Robert Debré, Paris, France
35. Service de pédiatrie 1 et de génétique médicale, CHU Dijon, Dijon, France
36. Service de Dermatologie, CHU Dijon, Dijon, France

**Mots clefs :** Hypertrophie, PIK3CA, CLOVES, MCAP, post-zygotique, mosaïque

#### Résumé :

Des mutations post-zygotiques de *PIK3CA* ont été identifiées dans un spectre d'atteintes cliniques diverses : macrodactylie isolée, hypertrophie fibro-adipeuse, lipomatose faciale, hémimégalencéphalie, naevus

épidermiques, malformations vasculaires, souvent syndromiques (syndromes CLOVES ou MCAP), actuellement regroupées sous le terme de spectre hypertrophique lié à *PIK3CA* (PROS). A partir des demandes de diagnostic moléculaire reçues dans notre centre, nous avons cherché à décrire le spectre clinique observé, le spectre mutationnel dans notre cohorte, et le rendement diagnostique en fonction de la catégorie clinique.

Nous avons classé *a priori* les patients en deux catégories : 1) spectre CLOVES - incluant macrodactylie, hypertrophie lipomateuse, malformations vasculaires de la peau et des parties molles, naevus épidermique et scoliose, isolés ou associés de façon variable - et 2) spectre MCAP allant d'une dysplasie focale corticale isolée au syndrome MCAP (mégaloencéphalie + malformation capillaire cutanée). Le spectre MCAP se distingue du spectre CLOVES par une atteinte du système nerveux central et la possibilité d'identifier la mutation de *PIK3CA* non seulement sur le tissu atteint mais aussi sur le sang ou la salive. Nous avons donc analysé notre cohorte de deux façons selon le type de tissu étudié, soit en ne considérant que les patients analysés sur au moins un échantillon de tissu atteint, généralement une biopsie cutanée (n = 155) ou en incluant aussi les patients analysés seulement sur sang ou salive (n = 186). Dans le premier cas, la répartition est de 110 cas de CLOVES (71%) pour 45 cas de MCAP (29%), avec un rendement diagnostique de 61% pour le CLOVES et 58% pour le MCAP. Dans le deuxième cas, la répartition est de 110 cas de CLOVES (59%) et 76 cas de MCAP (41%), avec un rendement diagnostique plus faible pour le MCAP (53%). 12 mutations de *PIK3CA* dans le spectre CLOVES étaient déjà rapportées, nous avons identifié 16 nouvelles mutations. Dans le spectre MCAP, nous rapportons 8 nouvelles mutations (27 mutations déjà identifiées). Dans les deux cas, elles étaient réparties sur l'ensemble de la séquence du gène. Sept mutations étaient communes aux CLOVES et aux MCAP, dont les 3 principales mutations *hotspot* p.Glu542Lys, p.Glu545Lys et p.His1047Arg. Ces dernières ne représentent que 26% des cas positifs (n = 107) et n'ont jamais été retrouvées au niveau du sang ou de la salive.

En conclusion, le diagnostic moléculaire de *PIK3CA* a un rendement optimal sur biopsie cutanée en zone atteinte sans mise en culture. Il reste possible sur un prélèvement salivaire ou sanguin en cas d'atteinte du système nerveux central, mais le rendement diagnostique est plus faible. Enfin, le spectre mutationnel s'étendant au-delà des trois mutations *hotspot*, le séquençage de l'ensemble de *PIK3CA* est recommandé.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #3394 : Identification de trois mutations ponctuelles dans le gène *AUTS2* chez des patients avec déficience intellectuelle de sévérité variable

#### Auteurs :

Francesca Mattioli (1), Bertrand Isidor (2), Elise Schaefer (3), Albert David (2), Bérénice Doray (4), Jamel Chelly (5), Bénédicte Gerard (6), Jean-Louis Mandel (5), Amélie Piton (1)

1. Département de neurogénétique médecine translationnelle, IGBMC, Strasbourg, France
2. Service de Génétique Médicale, CHU de Nantes, Nantes, France, , Nantes, France
3. Département de Génétique, CHU de Hautepierre, Strasbourg, France, , Array, France
4. Département de Génétique, CHU de Hautepierre, Strasbourg, France, , Strasbourg, France
5. Département de neurogénétique médecine translationnelle, IGBMC, Illkirch, France
6. Laboratoire de Diagnostic Génétique, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, , Strasbourg, France

**Mots clefs :** déficience intellectuelle, troubles du spectre autistiques, *AUTS2*

#### Résumé :

Le gène *AUTS2* (Autism susceptibility 2) a été décrit pour la première fois comme gène candidat chez deux jumeaux monozygotes présentant un retard de développement, des traits autistiques et une épilepsie, et porteurs d'une translocation équilibrée interrompant ce gène (*Sultana et al., 2002*). De nombreuses délétions intragéniques ont été décrites depuis et semblent associées à un retard de développement plus au moins sévère, avec ou sans traits autistiques, une microcéphalie, un retard de croissance et une dysmorphie faciale (*Amarillo et al., 2014 ; Coe et al., 2014*). Le calcul d'un indice de sévérité sur 24 patients ainsi qu'une étude du modèle zébrafish ont suggéré que la sévérité du phénotype pourrait être corrélée à la localisation de la délétion et au fait qu'elle affecte ou non une isoforme courte en 3' du gène en plus de l'isoforme longue décrite dans les bases de données (*Beunders et al., 2013*). Une seule mutation ponctuelle de ce gène a été décrite récemment chez un patient avec DI modérée, traits autistiques et microcéphalie (*Beunders et al., 2015*). Nous rapportons ici trois nouvelles mutations tronquantes dans le gène *AUTS2*. Deux ont été identifiées par séquençage haut-débit ciblé, et affecte seulement l'isoforme longue du gène. La première est une mutation survenue *de novo* chez une fille présentant une DI légère avec traits autistiques. La deuxième concerne deux enfants atteints de DI modérée à sévère, et transmise par leur mère présentant une DI légère. Enfin, la dernière mutation, affectant à la fois l'isoforme longue et l'isoforme courte codées par le gène *AUTS2*, a été identifiée par séquençage d'exome dans une famille avec plusieurs individus présentant divers degrés de DI suivant un mode de transmission autosomique dominant. L'identification de ces trois mutations suggère qu'il existe une variabilité phénotypique (sévérité du retard et comorbidités associées) même entre individus porteur de la même mutation. Des études fonctionnelles ont été entreprises pour identifier les conséquences moléculaires de mutations tronquantes dans le gène *AUTS2* et mieux appréhender leur impact sur la sévérité de la DI (caractérisation des différentes isoformes et de leur expression dans des précurseurs neuronaux humains et dans des fibroblastes de patients, effet sur la régulation des gènes).

**#3396 : Impact of defective protein N-glycosylation in the developing mouse cerebellum**

**Auteurs :**

Daniel Medina Cano (1), Michael Nicouleau (2), Laurence Colleaux (2), Vincent Cantagrel (2)

1. Institut Imagine, Hôpital Necker, PARIS, France
2. Institut Imagine, Hôpital Necker, Paris, France

**Mots clefs :** N-glycosylation, SRD5A3-CDG, Cerebellum

**Résumé :**

The disruption of protein N-glycosylation causes Congenital Disorders of Glycosylation (CDG), a group of genetic diseases associated with heterogeneous clinical signs. Among these signs, intellectual disability is the most consistent and cerebellar atrophy/hypoplasia are frequently observed. Mutations in *SRD5A3* gene are responsible for a CDG subtype (SRD5A3-CDG). This CDG is caused by disruption in the synthesis of dolichol, the lipid used to build the lipid-linked oligosaccharide that is necessary to initiate the protein-N-glycosylation process, and is usually associated with a severe neurological phenotype. It is known that during development, neural stem cells rely heavily on N-glycosylated proteins for differentiation, adhesion, migration and synaptogenesis. However the physiopathological mechanisms underlying the neurological phenotype, including the cerebellar one, are unknown.

To assess the importance of an intact N-glycosylation process during cerebellar development and to overcome the embryonic lethality of the *Srd5a3*<sup>-/-</sup> mouse, we created a conditional knockout (cKO) mouse for the *Srd5a3* gene. We are currently testing the effect of tissue and time-specific inactivation of *Srd5a3* using several Cre lines. By using a transgenic line that achieves whole cerebellum-specific disruption, the histological evaluation of this mutant showed the presence of ectopic cells that accumulate in the cerebellar molecular layer during development and are present until adulthood. These ectopic cells were identified as granule cells that are unable to completely migrate inward to the internal granule cell layer. By achieving a granule cell specific disruption of *Srd5a3*, we could observe the same defect, suggesting a cell autonomous mechanism. In addition to this, we have generated mouse embryonic fibroblasts (MEFs) carrying the *Srd5a3* truncation. By qPCR we detect an up-regulation of the UPR pathway in both the mouse mutant cerebellum and the MEFs, supporting the N-glycosylation impairment within our models. These MEFs will be further used to even better characterize the glycosylation defect.

These results, in combination with the up-coming studies should help to better understand the pathophysiological mechanisms underlying SRD5A3-CDG, and by doing so, to gain insights into the implication of the N-glycosylation pathway during brain development.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #3399 : Le peignage moléculaire révèle de nouveaux remaniements au locus 4q35 dans la dystrophie facio-scapulo-humérale

#### Auteurs :

Karine Nguyen (1), Francesca Puppo (1), Marie-Cécile Gaillard (1), Charlene Chaix (2), Catherine Vovan (2), Marc Bartoli (1), Emmanuelle Salort-Campana (1), Shahram Attarian (1), Rafaëlle Bernard (2), Frédérique Magdinier (1), Nicolas Levy (1)

1. INSERM GMGF UMR S\_910, Aix Marseille Université, Marseille, France
2. Département de génétique médicale , CHU Timone enfants, Marseille, France

**Mots clefs** : peignage moléculaire, D4Z4, dystrophie facio-scapulo-humérale, 4q35, remaniements, méthylation, SMCHD1

#### Résumé :

La dystrophie facio-scapulo-humérale (FSHD), l'une des dystrophies musculaires héréditaires les plus fréquentes, est une maladie de transmission autosomique dominante, à pénétrance incomplète et expressivité variable, avec de nombreux cas sporadiques. Elle est extrêmement complexe sur le plan moléculaire. En effet, elle est associée à de multiples facteurs génomiques combinés situés à l'extrémité sub-télomérique du chromosome 4q35. Le diagnostic moléculaire classique repose sur la technique du Southern blot qui est une méthode de diagnostic indirect qui a de nombreux inconvénients et notamment qui ne permet pas de conclure dans de nombreuses situations. Nous avons récemment proposé une technique alternative basée sur le peignage moléculaire de l'ADN génomique avec hybridation de sondes fluorescentes dirigées contre la région d'intérêt D4Z4 et les séquences environnantes, ceci pour le diagnostic de la FSHD, et plus largement pour l'exploration de l'organisation génomique de la région 4q35.

Nous avons validé la technique du peignage moléculaire et observé les combinaisons alléliques dans une large cohorte de 586 patients atteints de FSHD, pour lesquels le diagnostic en Southern blot n'était pas concluant.

Chez 332 patients, les deux allèles 4q35 étant normaux, nous avons exclu la FSHD de type 1, alors que chez 230 patients, nous avons trouvé une contraction classique de D4Z4 inférieure ou égale à 10 unités, permettant de confirmer le diagnostic de FSHD de type 1. Chez 14 patients appartenant à 10 familles différentes, nous avons identifié un nouveau remaniement récurrent hétérozygote au locus 4q35 consistant en une duplication de D4Z4 située sur un haplotype 4qA. Nous avons si possible étudié la ségrégation familiale de ce remaniement, exploré ces patients par une étude de méthylation de D4Z4 et un séquençage d'exome qui a permis de mettre en évidence chez certains patients une mutation du gène SMCHD1 impliqué dans la dystrophie facio-scapulo-humérale de type 2.

Le peignage moléculaire est donc validé pour le diagnostic des formes classiques de FSHD1. De plus, il nous permet de visualiser facilement un nouveau remaniement complexe du locus 4q35 jusque là inaccessible par la technique habituelle du Southern blot. Ce remaniement a une fréquence dans cette série de 1/42. Il apparaît associé ou non à d'autres anomalies génétiques connues pour être responsables de la FSHD. Nous en discutons son implication dans la pathogenèse de la FSHD chez ces patients.

**#3402 : Etude fonctionnelle de mutations du transporteur de zinc SLC39A4 dans l'acrodermatite entéropathique**

**Auteurs :**

Xénia Latypova (1), Thomas Besnard (1), Philippe Hulin (2), Steven Nedellec (2), Stéphane Bézieau (1), Sébastien Küry (1)

1. Service de Génétique Médicale, CHU de Nantes, Nantes, France
2. Plateau d'imagerie cellulaire MicroPICell, SFR Santé, Nantes, France, Nantes, France

**Mots clefs :** Acrodermatite entéropathique, zinc, SLC39A4, étude fonctionnelle

**Résumé :**

Le zinc est un acteur clé de processus biologiques variés. L'homéostasie du zinc est finement régulée et son absorption intestinale en constitue une étape critique. L'acrodermatite entéropathique est une cause rare de déficit en zinc héréditaire. Des mutations de *SLC39A4*, codant pour un transporteur transmembranaire de zinc essentiellement exprimé dans les entérocytes, ont été mises en évidence chez les patients. Depuis l'identification de ce gène par notre laboratoire en 2002, un test diagnostique moléculaire a été mis au point. Cependant l'effet fonctionnel des mutations de *SLC39A4* n'est que peu connu et la détermination de la pathogénicité de variants de signification inconnue nouvellement identifiés reste délicate.

Nous avons évalué les conséquences cellulaires des mutations faux-sens de *SLC39A4* grâce à une transfection transitoire de lignées cellulaires *HeLa*. La localisation membranaire du transporteur a été explorée par immunofluorescence dans des cellules exprimant l'ADNc de *SLC39A4* et portant une étiquette hémagglutinine. Une perturbation de l'adressage membranaire a été constatée pour huit mutations situées dans le domaine N-terminal de la protéine. La mesure des concentrations intracellulaires de zinc est la stratégie proposée afin de modéliser *in vitro* les troubles d'absorption *via* un enregistrement en *time-lapse* des flux entrants. Enfin, l'effet sur l'épissage de certains variants a pu être mis en évidence par analyse minigène.

L'évaluation fonctionnelle du spectre mutationnel de *SLC39A4* a permis d'apporter des informations clés pour l'interprétation des données moléculaires dans un cadre diagnostique. Cette stratégie, potentiellement applicable à d'autres transporteurs de zinc, constitue ainsi un outil d'étude des causes génétiques de déficit en zinc.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #3403 : Histoire naturelle de la maladie de Fabry chez les hommes et les femmes porteurs de la mutation p.N215S du gène GLA

#### Auteurs :

Dominique P. Germain (1), Eva Brand (2), Franco Cecchi (3), Judy Kempf (4), Dawn A Laney (5), László Maródi (6), Suma Shankar (7), Aleš Linhart (8), Stephan Waldek (9), Christophe Wanner (10), Anna Jovanovic (11)

1. Génétique Médicale, Université de Versailles, Montigny, France
2. Internal Medicine D, Nephrology, Hypertension, and Rheumatology, University Hospital Muenster, Muenster, Allemagne
3. Cardiovascular genetic, University of Florence, Florence , Italie
4. Epidemiology, Genzyme/A Sanofi company, Cambridge, Etats-Unis
5. Human Genetics, Emory University School of Medecine, Atlanta, Etats-Unis
6. -, University of Debrecen, Debrecen, Hongrie
7. -, Emory University School of Medecine, Atlanta, Etats-Unis
8. -, Charles Univesity, Prague, République tchèque
9. , University of Sunderland, Sunderland, Royaume Uni
10. -, University of Wüzburg, Wüzburg, Allemagne
11. -, Salford Royal NHS Foundation Trust, Salford, Royaume Uni

#### Résumé :

**Introduction:** La maladie de Fabry est une maladie liée à l'X causée par des mutations de *GLA* qui code pour l'alpha-galactosidase lysosomale. La forme classique comporte une atteinte multisystémique avec des symptômes cutanés, rénaux, cardiaques et cérébrovasculaires. La mutation p.N125S (p.Asn215Ser) de *GLA* est au contraire considérée comme un variant mono-symptomatique cardiaque bien que des publications aient rapporté des cas d'atteinte rénale associée.

**Patients et méthodes:** L'histoire naturelle de 102 patients (51 hommes, 51 femmes), porteurs de la mutation p.N215S inclus dans le Fabry Registry (NCT00196742) a été analysée. Les épaisseurs de la paroi postérieure ventriculaire gauche (LVPWT) et du septum interventriculaire (IVST) et la filtration rénale (eGFR) ont été étudiées par groupe d'âge ; < 25 ; 25-34 ; 35-44 ; 45-54 ; 55-64 ; 65-74 ans, avant éventuelle thérapie enzymatique.

**Résultats:** Chez les hommes la LVPWT était anormale (> 12mm) chez 56% dans le groupe des 35-44 ans. L'IVST était > 12mm à partir de 25-34 ans (intervalle 9,0-15,0 mm, anormal à 60%), les valeurs augmentant avec l'âge. Chez les femmes, les moyennes de LVPWT et l'IVST étaient normales à tous les âges, sauf pour l'IVST chez les 65-74 ans (anormal chez 50%). Un LVPWT et/ou un IVST anormaux (> 12mm) furent retrouvés chez 12% des femmes < 65 ans, possiblement en raison d'un biais d'inactivation du chromosome X. L'eGFR était > 60ml/min/1,73m<sup>2</sup> jusqu'à 65 ans ou plus, à l'exception de 3 hommes et 3 femmes pour lesquels l'hypothèse d'une atteinte rénale hors maladie de Fabry est en cours d'investigation.

**Conclusion:** Les hémizygotés p.N215S peuvent manifester une atteinte cardiaque du jeune adulte, avec filtration glomérulaire normale chez la quasi-totalité des patients. A quelques rares exceptions, les paramètres rénaux et cardiaques sont dans les limites normales chez les hétérozygotés pour ce génotype.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #3405 : Identification d'une mutation homozygote du nouveau gène de l'albinisme SLC24A5 (AOC 6) chez 2 patients en Guyane Française

#### Auteurs :

Eulalie Lasseaux (1), Antoine Bertolotti (2), Claudio Plaisant (1), Aurélien Trimouille (1), Fanny Morice-Picard (3), Caroline Rooryck-Thambo (1), Didier Lacombe (1), Pierre Couppe (2), Alain Verloes (4), Benoit Arveiler (1)

1. Service de Génétique Médicale, CHU Bordeaux, Bordeaux, France
2. Dermatologie, Rosemon Hospital, Cayenne, France
3. Service de Dermatologie Pédiatrique, CHU Bordeaux, Bordeaux, France
4. Service de Génétique Médicale, AP-HP Robert Debré, Paris, France

**Mots clefs :** Albinisme, OCA6, Guyane

#### Résumé :

L'albinisme oculo-cutané (AOC) est une maladie autosomique récessive caractérisée par une hypomélanose de la peau, des cheveux et des yeux. Elle est associée à une réduction de l'acuité visuelle, un nystagmus et une photophobie. Récemment, deux nouvelles formes d'albinisme ont été identifiées : AOC 6 (*SLC24A5*) et AOC 7 (*C10orf11*).

Nous décrivons deux patientes non apparentées, âgées de 22 et 65 ans, atteintes d'une forme particulière d'albinisme. Elles sont originaires d'un village Bushinengue (descendants des esclaves Africains), situé le long du fleuve Maroni en Guyane Française. Les deux patientes présentaient des caractéristiques ophtalmologiques similaires. Elles avaient une faible acuité visuelle, une photophobie, l'iris marron et un nystagmus. Leurs cheveux étaient blonds à la naissance puis ont bruni avec le temps. Leur peau était marron claire et bronzait lors d'exposition au soleil. Avec le temps la seconde patiente présentait une pachydermie majeure sur laquelle l'examen clinique notait quelques kératoses actiniques mais pas de cancer de la peau.

L'analyse de ces patientes pour la plupart des gènes connus des formes syndromiques et non syndromiques de l'albinisme (*TYR*, *OCA2*, *TYRP1*, *SLC45A2*, *SLC24A5*, *GPR143*, *HPS 1* à 6) a été réalisée par séquençage nouvelle génération.

Nous avons identifié le même variant homozygote chez les deux patientes dans l'exon 5 du gène *SLC24A5* : **c.521G > A/p.Arg174Lys** qui n'avait jamais été décrit auparavant.

Wei et al en 2013 décrivaient OCA6 chez une jeune fille chinoise. Ils notaient également l'assombrissement du cuir chevelu au cours des années de suivi et un phototype II. L'enfant présentait par ailleurs les mêmes caractéristiques visuelles que nos patientes. Morice-Picard et al en 2014 rapportaient 5 autres patients avec un albinisme AOC 6, mais dont le phototype était plus variable. Du fait de l'éloignement géographique et du manque d'équipements, nous n'avons pu effectuer un examen ophtalmologique approfondi ainsi qu'une tomographie par cohérence optique chez la patients guyannaises.

Ce variant n'a jamais été décrit dans la littérature et n'est pas référencé dans la banque de données internationale de mutations HGMD. Il n'y a pas d'information sur la fréquence dans les banques de données ESP, EXAC, dbSNP, ce qui implique que ce variant est très rare. Les logiciels de prédiction Polyphen et Mutation Taster prédisent ce variant comme probablement pathogène. Tous ces éléments sont en faveur de la pathogénicité de ce variant.

Il sera important de tester plus de cas dans cette région afin de confirmer la présence d'un allèle ancestral dans cette population.

Notre découverte de cette mutation du gène *SLC24A5* chez deux patientes originaires de Guyane Française renforce l'importance du dépistage de cette nouvelle forme d'albinisme AOC 6.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #3406 : Détermination des variants TGm-Tn de l'intron 9 du gène CFTR par Snapshot et PCR allèle spécifique.

#### Auteurs :

Sylvie PATRI (1), Marlene BAUDIS (1), Alain KITZIS (1)

1. Laboratoire de Génétique, CHU de Poitiers, POITIERS, France

**Mots clefs :** CFTR, TGmT, SnapShot

#### Résumé :

La mucoviscidose est une maladie autosomique récessive causée par des mutations du gène CFTR (Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator). De nombreux travaux ont montré l'implication d'une région particulière de l'intron 9 composée d'un polyT et d'un polyTG dans l'efficacité d'épissage de l'exon 10 : c.1210-34TG(9\_13)T(5\_9) ou TGmTn. Un faible nombre de T (5T) associé à un nombre élevé de TG (12 ou 13 TG) entraîne une moins bonne efficacité de l'épissage normal et donc une moins grande quantité de protéine CFTR fonctionnelle. Ceci serait particulièrement vrai dans les infertilités masculines par absence bilatérale des canaux déférents. Il est donc important de pouvoir déterminer de façon simple et précise les associations de ces 2 variants (polyT et polyTG).

Nous décrivons ici une méthode simple et efficace pour déterminer l'haplotype du locus IVS9 du gène CFTR. Le nombre de T est d'abord déterminé par la technique SnapShot. Puis en fonction du nombre de T, on réalise deux PCR « allèle spécifique fluorescente », une pour chaque cas, l'une des amorces est imposée par le nombre de T, l'autre amorce étant fluorescente et commune à toutes les PCR. C'est la taille de la PCR qui donnera le nombre de TG. Cette technique a été employée sur de nombreux échantillons déjà génotypés au laboratoire et nous avons obtenu 100% de concordance.

Suite à notre demande plusieurs laboratoires français nous ont envoyé des échantillons d'ADN ayant un allèle 5T, 6T ou 8T, et nous avons également obtenu 100% de concordance.

Dans la pratique le génotypage polyT par SnapShot n'est réalisé que pour les infertilités masculines et la détermination des TG n'est effectuée que si un allèle 5T est détecté.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #3410 : Mise en œuvre du séquençage de l'exome pour le diagnostic étiologique des maladies neurodéveloppementales

#### Auteurs :

Céline Bonnet (1), Myriam Bronner (1), Laëticia Lambert (2), Aurélie Becker (1), Manon Kleber (1), Bruno Leheup (2), Philippe Jonveaux (1)

1. Laboratoire de génétique, CHRU de Nancy, Vandoeuvre Les Nancy, France
2. Service de Médecine Infantile et Génétique Clinique, CHRU de Nancy, Vandoeuvre Les Nancy, France

**Mots clefs :** exome, maladies neurodéveloppementales

#### Résumé :

Les maladies neurodéveloppementales (MND) recouvrent tout un champ varié de troubles du développement altérant la cognition, le comportement, associés dans certaines situations à d'autres symptômes (épilepsie, malformations). Face à l'extrême hétérogénéité génétique de ces maladies, les outils d'analyse pan génomique sont convoquées pour aboutir dans les meilleures conditions au diagnostic étiologique et proposer un conseil génétique et une offre de soin adaptés. Seize individus suivis dans le centre de référence maladies rares « Anomalies du développement » du CHRU de Nancy, ayant tous bénéficiés d'un bilan exhaustif dont une analyse chromosomique sur microréseau à très haute résolution ciblée sur les gènes MND, sans aboutir à un diagnostic étiologique, ont été orientés vers un séquençage de l'exome. La technologie Ion Proton (Life Technologies<sup>®</sup>) a été utilisée et nous avons comparé 2 techniques d'enrichissement de la librairie, amplification des exons par PCR (AmpliSeq exome, Life Technologies<sup>®</sup>) pour 8 patients, et capture par hybridation des exons (SureSelect, Agilent<sup>®</sup>) pour les 8 autres patients. L'analyse bioinformatique des données issues du séquençage a été réalisée d'une part sur le serveur Torrent<sup>®</sup>, et d'autre part en ligne de commande sur le système d'exploitation Linux. Plusieurs filtres ont été appliqués successivement afin de réduire le nombre de variations avec au final la comparaison à une liste de gènes impliqués dans les MND. Les variations retenues ont toutes été confirmées par séquençage Sanger. Quatre mutations clairement délétères ont été identifiées (4/16 soit 25 %) en se basant sur les données familiales et celles de la littérature : trois mutations dominantes *de novo* dans les gènes *SYNGAP1*, *KCNQ2* et *SLC9A6* et une mutation récessive à l'état homozygote du gène *AP4M1* (déjà rapportée comme causale) dans le cadre d'une union consanguine. Une variation faux sens du gène *CDKL5*, jamais décrite, héritée de la mère (sans biais dans le profil d'inactivation de l'X) a été identifiée chez un garçon avec un tableau clinique similaire à celui décrit dans la littérature chez un patient avec une mutation faux sens proche de celle de notre patient. Nous avons ensuite élargi l'analyse sur l'exome pour les autres patients. Chez l'un d'eux, une mutation faux sens, tronquant prématurément la protéine, a été observée à l'état homozygote dans un nouveau gène candidat. Certaines caractéristiques du visage (Kabuki-like) pourraient contribuer à étendre l'analyse de ce gène chez d'autres patients ayant un phénotype proche. Au total 6/16 anomalies (37%) ont été identifiées dont deux restent à confirmer. Par ailleurs, dans notre expérience, pour le séquençage sur Ion Proton, s'agissant de la comparaison des techniques d'enrichissement, AmpliSeq se révèle être plus rapide et moins coûteuse, avec une quantité d'ADN nécessaire 20 fois moindre et avec plus de données générées, plus de profondeur et une meilleure couverture de la région ciblée.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

**#3412 : Mutations du gène ARID1B : une cause majeure d'agénésie du corps calleux chez des patients présentant une déficience intellectuelle. Conséquences pour le dépistage prénatal.**

### Auteurs :

Agnès Rastetter (1), Christel Depienne (2), Caroline Nava (2), Solveig Heide (3), Boris Keren (3), Fabien Lesne (3), Anne Faudet (3), Christine Bole (4), Caroline Alby (5), Thierry Billette de Villemeur (6), Marie-Laure Moutard (6), Tania Attié-Bitach (7), Delphine Héron (8), Cyril Mignot (9)

1. INSERM U 1127, CNRS UMR 7225, UMR S 1127, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Institut du cerveau et de la moelle épinière (ICM), Paris, France
2. INSERM U 1127, CNRS UMR 7225, UMR S 1127, Département de Génétique et de Cytogénétique, AP-HP, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Institut du cerveau et de la moelle épinière (ICM), Paris, France
3. Département de Génétique et de Cytogénétique, AP-HP, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Paris, France
4. Plateforme de bioinformatique de l'Institut Imagine, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
5. INSERM U781, Institut IMAGINE, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
6. Service de Neuropédiatrie, Hôpital Trousseau, Paris, France
7. INSERM U781, Institut IMAGINE, Département de Génétique AP-HP, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
8. Département de Génétique et de Cytogénétique, AP-HP, Centre de Référence "déficiences intellectuelles de causes rares", Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Paris, France
9. Département de Génétique et de Cytogénétique, AP-HP, Centre de Référence "déficiences intellectuelles de causes rares", Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Paris, France

**Mots clefs :** agénésie du corps calleux, déficience intellectuelle, ARID1B, diagnostic prénatal, conseil génétique.

### Résumé :

Le corps calleux (CC) est une commissure transversale du cerveau composé de faisceau d'axones interconnectant les deux hémisphères cérébraux. L'agénésie du corps calleux (ACC) correspond à une absence complète ou partielle de ce corps calleux, survenant lors du développement cérébral, ayant un large spectre clinique allant de la déficience intellectuelle (DI) à une fonction cognitive normale. C'est la principale malformation cérébrale à la naissance, généralement découverte par l'échographie du second trimestre. L'ACC peut être soit isolée, soit complexe, associée à d'autres malformations cérébrales et/ou non cérébrales. Les ACC complexes ont un pronostic cognitif défavorable, avec un risque important de DI associée, comparées aux ACC isolées, pour lesquelles 70% des enfants ont un développement intellectuel normal. Les ACC isolées et complexes sont très hétérogènes sur le plan génétique et entrent dans le cadre de syndromes connus dans un tiers de cas environ. L'objectif de cette étude était de déterminer la fréquence des mutations dans les gènes préalablement associés à une ACC chez l'homme ou chez la souris, et si possible d'associer les corrélations génotype-phénotype pour établir un conseil génétique approprié aux couples lors de la détection d'une ACC isolée en prénatal. Nous avons séquencé les parties codantes de 423 gènes connus (callosome) dans une cohorte de 100 patients par séquençage haut-débit (Capture Sureselect d'Agilent puis séquençage Illumina sur HiSeq2500, Illumina). Le résultat majeur a été l'identification, dans 9% des cas, d'une mutation de novo du gène *ARID1B* entraînant l'apparition d'un codon stop prématuré. *ARID1B* code pour une sous-unité du complexe SWI/SNF, également appelé BAF, impliqué dans le remodelage de la chromatine. Ce complexe joue un rôle crucial dans l'expression de gènes cibles au cours du développement. Les mutations d'*ARID1B* ont précédemment été impliquées dans le syndrome de Coffin-Siris, qui est caractérisé par une déficience intellectuelle constante mais de sévérité variable, un retard de croissance intra-utérin, une dysmorphie légère et hypo/aplasie des ongles et des troisièmes phalanges prédominant aux cinquièmes doigts et orteils, pouvant être associés dans environ la moitié des cas à une agénésie, dysgénésie ou hypoplasie du corps calleux. Les patients de notre cohorte avec une mutation *ARID1B* ont pour la plupart un phénotype compatible avec un syndrome de Coffin-Siris mais aucun d'entre eux n'avait d'anomalie des phalanges et orteils, expliquant que ce diagnostic n'avait pas été évoqué chez tous les patients. Les patients avaient une histoire anténatale d'ACC considérée comme isolée. Ces résultats montrent que les mutations du gène *ARID1B* sont une cause importante d'ACC isolée évoluant de manière défavorable, et que le gène *ARID1B* doit faire partie des gènes analysés dans une situation d'ACC isolée découverte en période anténatale.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

**#3414 : Mise en évidence par séquençage de l'exome d'une mutation non sens homozygote dans le gène AP4M1 chez une patiente avec déficience intellectuelle sévère, microcéphalie, épilepsie, dystonie, spasticité et atrophie cérébrale**

### Auteurs :

Céline Bonnet (1), Aurélie Becker (1), Myriam Bronner (1), Christian Zix (2), Anne de Saint Martin (3), Laëtitia Lambert (4), Bruno Leheup (4), Philippe Jonveaux (1)

1. Laboratoire de génétique, CHRU de Nancy, Vandoeuvre Les Nancy, France
2. Pédiatrie, Hôpital Marie-Madeleine, Forbach, France
3. Centre de référence des épilepsies rares, CHRU de Strasbourg, Strasbourg, France
4. Service de Médecine Infantile et Génétique Clinique, CHRU de Nancy, Vandoeuvre Les Nancy, France

**Mots clefs :** exome, déficience intellectuelle, AP4M1

### Résumé :

Les mutations qui touchent un des 4 gènes codant les sous-unités AP4 (AP4B1, AP4E1, AP4M1 et AP4S1) sont responsables du « syndrome de déficience AP4 », entité qui regroupe des pathologies dont le phénotype clinique est chevauchant. Ces mutations sont identifiées dans des familles avec déficience intellectuelle sévère et tétraplégie cérébrale de transmission autosomique récessive. Les patients atteints présentent également une hypotonie infantile, une spasticité des quatre membres avec hypertonie généralisée, une absence de marche, une microcéphalie, des anomalies de la substance blanche et une atrophie cérébrale variable.

Nous avons identifié une mutation non sens à l'état homozygote dans le gène *AP4M1* chez une patiente d'origine turque née de parents cousins germains avec un phénotype comparable à celui décrit dans le « syndrome de déficience AP4 » par séquençage complet de l'exome. Il s'agit de la mutation NM\_004722.3(AP4M1):c.1012C > T p.Arg338\* située dans l'exon 13 (rs146262009) qui conduit à un codon stop prématuré. Tüysüz *et al.*, 2014 ont décrit la même mutation chez deux sœurs d'origine turque issues d'une union consanguine avec un phénotype associant déficience intellectuelle sévère et tétraplégie cérébrale. Cette récurrence de la mutation dans 2 familles d'origine turque évoque un probable effet fondateur.

Cette observation montre la puissance du séquençage de l'exome (sans stratégie en trio) pour l'identification de mutations dans les familles pour lesquelles une transmission autosomique récessive est probable.

Financement : PNMR2 – DGOS – Ministère des Affaires Sociales, de la Santé et des Droits des Femmes

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #3417 : Des mutations hypomorphes de TRAF3IP1/IFT54 révèlent un nouveau rôle pour les protéines de transport intraflagellaires (IFT) dans la stabilisation des microtubules

#### Auteurs :

Albane BIZET (1), Anita Becker-Heck (2), Rebecca Ryan (1), Kristina Weber (3), Emilie Filhol (1), Pauline Krug (1), Jan Halbritter (4), Bolan Linghu (5), Edward J. Oakeley (6), Fan Yang (5), Tewis Bouwmeester (6), Lucile Pinson (7), Elisabeth Cassuto (8), Philippe Dubot (9), Neveen A. Soliman Elshakhs (10), José A. Sahel (11), Rémi Salomon (12), Marie-Claire Gubler (1), Corinne Antignac (1), Joseph D. Szustakowski (5), Friedhelm Hildebrandt (4), Esben Lorentzen (3), Andreas W. Sailer (6), Alexandre Benmerah (1), Pierre Saint-Mezard (6), Sophie Saunier (1)

1. Laboratoire des maladies rénales héréditaires, Institut Imagine, Paris, France
2. Recherche Biomédicale, Instituts Novartis, Bâle, Suisse
3. Département de Biologie cellulaire structurale, Institut Max-Planck de Biochimie, Martinsried, Allemagne
4. Division de Néphrologie, Département de Médecine, Boston Children's Hospital and Harvard Medical School, Boston, Etats-Unis
5. Recherche Biomédicale, Instituts Novartis, Cambridge, Etats-Unis
6. Recherche Biomédicale, Instituts Novartis, Bâle, Suisse
7. Département pédiatrique, CHU Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
8. Département de Néphrologie, CHU Hôpital L'Archet II, Nice, France
9. Département d'Hémodialyse-Néphrologie, Hôpital William Morey, Chalon-sur-Saône, France
10. Département of Pédiatrie, Centre de Néphrologie Pédiatrique et Transplantation, Université du Caire, Le Caire, Égypte
11. INSERM U968; CNRS UMR 7210, Centre Hospitalier National d'Ophtalmologie des Quinze-Vingts, Paris, France
12. Département de Néphrologie Pédiatrique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France

**Mots clefs :** ciliopathies, néphronoptise, IFT, microtubules

#### Résumé :

Les ciliopathies sont un large groupe de maladies cliniquement et génétiquement hétérogènes, dues à un défaut de fonctionnement du cil primaire. Le cil primaire est un organite présent à la surface de la plupart des cellules des vertébrés contrôlant des voies de signalisation clés au cours du développement et de l'homéostasie tissulaire. Par séquençage d'exome total ou ciblé (>1200 gènes ciliaires), nous avons identifié des mutations récessives dans *TRAF3IP1* (TNF Receptor-Associated Factor Interacting Protein 1) chez 8 patients appartenant à 5 familles différentes. Tous les patients sont atteints de néphronoptise (NPH), une néphropathie tubulo-interstitielle chronique, et de dégénérescence rétinienne, deux des manifestations les plus courantes des ciliopathies. Six patients présentent également des défauts squelettiques, quatre des atteintes hépatiques et deux patients de la même famille présentent les signes cliniques d'un syndrome de Bardet-Biedl (troubles cognitifs, dégénérescence rétinienne, polydactylie, obésité et hypogonadisme). *TRAF3IP1* code l'IFT54, une sous-unité du complexe IFT-B, essentiel au transport intraflagellaire le long du cil et à la ciliogenèse. Cependant, les mutations identifiées n'entraînent que de légers défauts des cils, notamment de composition de la membrane ciliaire associée à des défauts de signalisation (AMPc/PKA). En revanche, les mutations faux-sens de *TRAF3IP1/IFT54* perturbent l'association de l'IFT54 avec MAP4 (Microtubule-Associated Protein 4), une protéine stabilisant les microtubules, et entraînent une augmentation de l'expression de MAP4. Ainsi, nos travaux révèlent un rôle inattendu de l'IFT54 en tant que régulateur négatif de la stabilité des microtubules cytoplasmiques via MAP4. La stabilisation des microtubules est associée à des altérations de l'épithélialisation et de la mise en place de la polarité apico-basale des cellules rénales, ainsi qu'à l'apparition de kystes du pronéphros et une microphthalmie chez les embryons de poissons zèbres mutants. Ces défauts sont restaurés par l'inactivation partielle de MAP4 *in vitro* et *in vivo*. Nos résultats démontrent donc le double rôle de l'IFT54: premièrement, comme régulateur de la composition ciliaire; et deuxièmement, comme modulateur de la dynamique des microtubules cytoplasmiques, ce qui pourrait ainsi représenter un nouveau mécanisme contribuant au développement de la NPH et des ciliopathies associées.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #3418 : Mutations activatrices de GNA11 et GNAQ en mosaïque dans les phacomatoses pigmento-vasculaires et les taches mongoliques étendues

#### Auteurs :

PIERRE VABRES (1), Thomas Anna (2), Zhiqiang Zeng (3), Jean-Baptiste Rivière (4), Yannis Duffourd (4), Elizabeth Patton (3), Veronica Kinsler (2)

1. DERMATOLOGIE, CHU DIJON BOURGOGNE, DIJON, France
2. Genetics and Genomic Medicine, UCL Institute of Child Health, London, Royaume Uni
3. Human Genetics Unit, MRC Institute of Genetics and Molecular Medicine, Edinburgh, Royaume Uni
4. EA Génétique des Anomalies du Développement, Université de Bourgogne Franche-Comté, DIJON, France

**Mots clefs :** mosaïque, protéine G, malformations vasculaires, mélanocyte

#### Résumé :

Les taches mongoliennes, correspondant à une mélanocytose dermique, sont fréquentes à la naissance mais généralement transitoires. Elles peuvent parfois persister isolément ou en association à des angiomes plans dans les phacomatoses pigmento-vasculaires (types *cesioflammea* et *cesiomarmorata*), affections où nous avons identifié des mutations en mosaïque de deux gènes de protéines G.

Huit patients atteints de divers types de phacomatose pigmento-vasculaire et trois présentant une mélanocytose dermique persistante étendue ont été étudiés par séquençage ciblé des gènes *GNAQ* et *GNA11* sur ADN de biopsie de peau pigmentée, d'angiome plan, de sang, ou dans un cas de tissu oculaire. Tous les patients présentaient à la fois des taches mongoliennes ou des taches café-au-lait et des angiomes plans, des naevus anémiques ou une *cutis marmorata*. Certains d'entre eux avaient des manifestations associées neurologiques (épilepsie), oculaires (mélanocytose, glaucome) ou une hypertrophie localisée. Afin de confirmer le rôle pathogène des mutations *GNA11* identifiées, elles ont été transfectées dans des cellules HEK293T pour étudier la phosphorylation des protéines des voies effectrices d'aval, et dans des embryons de poissons-zèbres sous contrôle du promoteur mélanocytaire *mitfa* pour déterminer leur phénotype pigmentaire adulte. Des mutations *GNA11* ont été identifiées chez 4 patients (PPV *cesioflammea* et *cesiomarmorata*) toutes sur le codon 183, et des mutations *GNAQ* chez 4 patients (PPV *cesioflammea* avec angiome plan étendu fronto-facial et à distance, et mélanocytose dermique étendue), sur les codons 183 et 209. Elles étaient retrouvées à un taux variable dans les biopsies cutanées, et absentes dans le sang, confirmant leur survenue post-zygotique. Dans les cellules HEK293T, la transfection des mutations *GNA11*<sup>R183C</sup> et *GNA11*<sup>Q209L</sup> augmentaient à des degrés différents la phosphorylation des protéines JNK et p38. Les poissons-zèbres transfectés avec *GNA11*<sup>R183C</sup> développaient systématiquement une pigmentation mélanique dermique.

Des mutations *GNAQ* identiques ont initialement rapportées dans le syndrome de Sturge Weber. Des mutations *GNA11* n'ont précédemment été rapportées que dans des mélanomes uvéaux et des naevus bleus, beaucoup plus fréquemment sur le codon 209 que sur le codon 183. Ces mutations ne sont pas retrouvées dans le sang ni dans la peau normale, la mosaïque étant limitée aux régions atteintes. La mutation survient probablement dans une cellule progénitrice se différenciant ensuite en lignées vasculaire et mélanocytaire. Nos résultats étendent le spectre des dermatoses vasculaires ou pigmentaires liées à des mutations en mosaïque de protéines G, au même titre que le syndrome de Sturge-Weber (*GNAQ*) ou de McCune-Albright (*GNAS*).

**#3419 : Etude du gène MECP2 dans le syndrome de Rett**

**Auteurs :**

mediha trabelsi (1), nesrine kerkeni (2), Imene Boujelbene (1), Rim Meddeb (1), Faouzi Maazoul (1), Ilhem Turki (3), Ridha Mrad (1)

1. Service des maladies congénitales et héréditaires, EPS Charles Nicolle, , tunis, Tunisie
2. Laboratoire de génétique humaine, , faculté de médecine de tunis, tunis, Tunisie
3. Service de neurologie de l'enfant et de l'adolescent, Institut mongi ben hmida de neurologie, , tunis, Tunisie

**Mots clefs :** syndrome de Rett, MECP2, Forme typique, Forme atypique

**Résumé :**

**Introduction :**

Le syndrome de Rett est un trouble neurodéveloppemental progressif qui touche presque exclusivement les filles en se transmettant selon le mode dominant lié à l'X. Son diagnostic clinique repose sur des critères diagnostiques permettant de distinguer la forme atypique de la forme typique. Les mutations du gène *MECP2* (Xq28) sont responsables de 95 à 97 % des Rett typiques alors qu'elles sont rarement décrites dans les formes atypiques.

Nous proposons, dans cette étude, d'analyser le gène *MECP2* chez 10 patientes répondant aux critères cliniques du syndrome de Rett.

**Patients et méthodes :**

Etude clinique et génétique de 10 patientes suivies au service des maladies congénitales et héréditaires de l'Hôpital Charles Nicolle pour suspicion d'un syndrome de Rett.

Une analyse par séquençage des exons codants du gène *MECP2* a été entreprise chez toutes les patientes.

**Résultats**

L'âge moyen à la première consultation était de 3 ans et 7 mois. Une régression psychomotrice a été notée chez 8 patientes sur 10 constituant ainsi le principal motif de consultation. Selon les critères diagnostiques du syndrome de Rett, 7 patientes présentaient la forme typique et 3 présentaient une forme atypique dont 1 de forme congénitale.

Le séquençage du gène *MECP2* a identifié 5 mutations différentes, permettant ainsi de confirmer le diagnostic du syndrome de Rett chez 7 patientes. Parmi ces mutations, 1 est de type faux-sens siégeant au niveau du domaine TRD et 4 sont de type non-sens touchant les domaines TRD, inter-domaine, et le domaine N-terminal. Bien que habituellement rares dans la forme congénitale du syndrome de Rett, une mutation du gène *MECP2* a été identifiée chez une de nos patientes présentant cette forme clinique. Aucune corrélation génotype-phénotype n'a été notée dans notre série.

Le séquençage du gène *MECP2* n'a révélé aucune mutation chez trois patientes dont deux présentant une forme typique du syndrome de Rett.

**Conclusion :**

L'analyse du gène *MECP2* a permis de confirmer le diagnostic et de présenter un conseil génétique adapté pour 7 familles. Malgré le faible risque de mosaïcisme germinale, un diagnostic prénatal pour les prochaines grossesses leur a été également proposé.

Une analyse complémentaire du gène *MECP2*, par méthodes semi-quantitatives, s'impose pour les 3 patientes restantes avant d'éliminer son implication

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

**#3420 : Les mutations du gène du Steroidogenic factor 1 (SF1/NR5A1) peuvent être responsables d'anomalies de la rate, même à l'état hétérozygote. Démonstration chez un homme 46,XY présentant un hypospadias pénien et une asplénie responsable de purpura fulminans**

### Auteurs :

Cindy COLSON (1), Estelle AUBRY (2), Maryse CARTIGNY (3), Amélie-Anne REMY (3), Hélène FRANQUET (4), Remi BESSON (2), Charles SULTAN (5), Françoise PARIS (5), Pascal PHILIBERT (5), Sylvie MANOUVRIER-HANU (1)

1. Université Lille2, EA7364 RADEME et CHRU de Lille, Clinique de Génétique Guy Fontaine, CHRU de Lille, Lille, France
2. Service de chirurgie de l'enfant, CHRU de Lille, Lille, France
3. Endocrinologie pédiatrique, Pôle enfants, CHRU de Lille, Lille, France
4. Unité de foetopathologie. Service d'anatomopathologie, CHRU de Lille, Lille, France
5. Département de génétique et hormonologie, Université de Montpellier, Montpellier, France

**Mots clefs :** SF1, NR5A1, XY DDS, Asplénie

### Résumé :

Le gène SF1/NR5A1 code le Steroidogenic factor 1, un facteur de transcription dont les gènes cibles sont impliqués dans le développement de nombreux tissus stéroïdogéniques et non stéroïdogéniques (dont la rate et l'hypothalamus). Les mutations de NR5A1, qui sont transmises le plus souvent sur un mode autosomique dominant avec grande variabilité d'expression, sont responsables de divers phénotypes incluant des anomalies du déterminisme du sexe (pouvant aller jusqu'à un défaut complet de virilisation chez des sujets 46,XY), des anomalies de la spermatogénèse, une insuffisance ovarienne prématurée et une insuffisance corticosurrénalienne (MIM185457). L'implication de SF1 dans le développement de la rate avait été démontrée chez l'animal, mais ce n'est que très récemment qu'une atteinte splénique a été observée chez un patient porteur d'une mutation faux-sens homozygote de SF1/NR5A1 et un autre porteur d'une microdélétion emportant NR5A1. Nous apportons une nouvelle démonstration de cette implication en décrivant une mutation non-sens hétérozygote de NR5A1 chez une patiente souffrant d'un 46,XY DDS avec phénotype féminin à la naissance et d'une polysplénie, et à un hypospadias pénien et une asplénie chez son père. Chez celui-ci l'atteinte splénique a été découverte au décours d'un purpura fulminans survenu à 45 ans et ayant nécessité l'amputation des quatre extrémités. Etant donnée la gravité des défauts spléniques, nous recommandons l'exploration anatomique et fonctionnelle de la rate chez tous les patients porteurs de mutations de SF1/NR5A1.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #3421 : Syndrome de Dravet et séquençage du gène *SCN1A* : comparaison des approches Sanger, PCR-longue/NGS et PCR multiplexe/NGS

#### Auteurs :

Christelle Mangeonjean (1), Rodolphe Dard (1), Emilie Landais (2), Mélanie Jennesson Lyver (3), Elise Yazbeck (4), Nathalie Bednarek Weirauch (5), Pascal SABOURAUD (4), Dominique Gaillard (1), Martine Doco-Fenzy (1), Jacques Motte (3), Anne-Sophie Lebre (1)

1. Service de génétique, CHU Reims, Hôpital Maison Blanche, REIMS, F-51092, France, Reims, France
2. Plate-forme Régionale de Biologie Innovante, CHU Reims, Hôpital Maison Blanche, REIMS, F-51092, France, Reims, France
3. Service de pédiatrie et Centre de référence des épilepsies rares et de la sclérose tubéreuse de Bourneville , CHU Reims, American Memorial Hospital, REIMS, F-51092, France, Reims, France
4. Services de pédiatrie A et B, CHU Reims, American Memorial Hospital, REIMS, F-51092, France, Reims, France
5. Services de pédiatrie A et B, CHU Reims, American Memorial Hospital, Reims, France

**Mots clefs :** Epilepsie, Encéphalopathie épileptique, panel NGS, Dravet, *SCN1A*

#### Résumé :

Le service de neuropédiatrie du CHU de Reims est site constitutif du centre de référence « Epilepsies rares et Sclérose tubéreuse de Bourneville » Ce centre est multi-sites (Paris-Necker, Paris-Salpêtrière, Lille, Reims et Strasbourg) avec une file active de 260 patients au CHU de Reims (estimation Pyramig) et de nombreux patients en attente de diagnostic moléculaire. De nombreux patients consultants au CHU de Reims présentent un syndrome de Dravet. Il s'agit d'une encéphalopathie épileptique progressive rare. Les premiers signes apparaissent la première année de vie. Les crises d'épilepsie sont pharmaco-résistantes et s'accompagnent d'une détérioration mentale et neurologique progressive. Le pronostic est sombre, avec 15% de décès secondaires aux crises ou à la pathologie sous-jacente. La moitié des patients ont un QI < 50.

Le nombre de gènes impliqués dans le syndrome de Dravet augmente avec le développement des approches NGS. Cependant, le gène *SCN1A* reste à ce jour le gène le plus fréquemment en cause (70% des cas). Près de la moitié des patients ont une histoire familiale de syndromes épileptiques et de convulsions fébriles. Récemment, *SCN1A* a été impliqué dans d'autres types d'épilepsie et est donc devenu le gène majeur en terme de besoin de séquençage pour le CRMR de Reims.

Neuropédiatres et généticiens se sont donc associés pour développer le diagnostic moléculaire du gène *SCN1A* au CHU de Reims, ceci par 3 approches de séquençage : Sanger, PCR-longue/NGS et PCR multiplexe/NGS (panel EP35 : 35 gènes d'EE précoces -190kb de région cumulée). Le panel EP35 a été éprouvé de manière rétrospective sur une cohorte de 75 patients dont 10 patients avec syndrome de Dravet et 6 témoins avec mutation de *SCN1A*.

Nous présentons ici les avantages et inconvénients des 3 approches du point de vue technique avec des exemples de patients avec délétion complète, délétion intragénique et mutations ponctuelles du gène *SCN1A*. L'approche par PCR multiplexe/NGS permet de remplacer avantageusement les approches Sanger et MLPA, en termes de rendement diagnostique, délai de rendu mais aussi du point de vue médico-économique. Le panel EP35 entre donc désormais en 1<sup>ère</sup> ligne dans la stratégie diagnostique du syndrome de Dravet au CHU de Reims.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #3422 : Détermination par NGS des haplotypes du locus D4Z4 impliqué dans la dystrophie facio-scapulo-humérale (FSHD)

#### Auteurs :

Sophie RONDEAU (1), Armelle LUSCAN (1), Marc BRAS (2), Patrick NITSCHKE (2), Chrystel LEROY (1), Michel VIDAUD (1), Marc JEANPIERRE (1), Sabrina SACCONI (3), Audrey BRIAND-SULEAU (1)

1. Service de Génétique et Biologie Moléculaires, HUPC, Hôpital Cochin, PARIS, France
2. Plateforme de Bioinformatique Paris-Descartes, Institut Imagine, PARIS, France
3. Centre de référence des Maladies Neuromusculaires, Hôpital Archet 1, Université Nice Sophia-Antipolis, Faculté de Médecine, NICE, France

**Mots clefs :** FSHD, NGS, haplotypage

#### Résumé :

La FSHD est une myopathie héréditaire transmise sur un mode autosomique dominant avec une prévalence de l'ordre de 1/20 000 (ORPHA269). La description récente des mécanismes moléculaires a permis de différencier deux formes de la maladie, FSHD1 et FSHD2, qui ont en commun l'expression anormale de la protéine DUX4 à partir des unités répétées D4Z4 localisées en 4q35. Chez les individus atteints de FSHD, une hypométhylation et une décompaction chromatiniennne du locus D4Z4 permettent l'expression du rétrogène *DUX4*. Ce phénomène est corrélé en cas de FSHD1 à une diminution du nombre de répétitions D4Z4 et, en cas de FSHD2, à une mutation du gène *SMCHD1* situé sur le chromosome 18 et connu pour être acteur de la régulation épigénétique de la chromatine. Dans les deux cas, un haplotype dit « permissif » (type 4qA) caractérisé par une séquence pLAM spécifique qui contient un signal de polyadénylation (PAS) en 3' de la dernière sous-unité D4Z4 est nécessaire pour stabiliser le transcrit *DUX4* et permettre l'expression de la protéine. En cas de FSHD1, l'haplotype 4qA est en *cis* de l'allèle contracté tandis que la présence d'un seul allèle 4qA est suffisante en cas de FSDH2, qui répond à un modèle de digénisme (Daxinger L et al. *Curr Opin Genet Dev.* 2015,33:56-61).

La capacité d'identifier les haplotypes permissifs est avec l'étude la méthylation du locus D4Z4 et le séquençage du gène *SMCHD1*, l'un des enjeux majeurs du diagnostic moléculaire de la FSHD. Le locus D4Z4 est complexe, riche en GC et présente 98% d'identité avec la région 10q26. Nous présentons les résultats d'une nouvelle approche pour identifier les haplotypes permissifs fondée sur l'étude ciblée par NGS (AmpliSeq™ 400bp, Ion PGM™ System, ThermoFisher Scientific) des régions SSLP, p13E11 et pLAM.

La preuve de concept de cette approche a été montrée par l'analyse de 24 patients atteints de FSHD dont les haplotypes avaient été déterminés par des approches conventionnelles (Lemmers et al. *AJHG* 2007). Dans un second temps, 76 patients atteints de FSHD ont été testés. L'analyse a été concluante pour 68 patients. Pour 1 patient, les données NGS sont compatibles avec une délétion de la région p13E11 (Deak KL et al. *Neurology*, 2007, 68:578-83). Pour les 7 autres patients, les haplotypes ne correspondent pas aux données de la littérature démontrant la complexité du locus et les possibilités de réarrangement entre les chromosomes 4 et 10. Dans tous les cas, la détermination de la présence ou l'absence du PAS a été possible.

Le NGS présente des avantages par rapport aux autres approches :

- Le séquençage parallèle de fragments de 400 bp simplifie la détermination des haplotypes et la profondeur supérieure à 1000X permet des analyses bio-informatiques qualitatives et quantitatives spécifiques.
- La faible quantité d'ADN génomique utilisée (10 ng par patient) et la possibilité d'étudier 24 patients simultanément sur une puce 316 sont compatibles avec des études rétrospectives.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

**#3424 : -Identification d'un ARN long non codant (LncRNA) en amont d'un facteur neurotrophique lié à une insensibilité à la douleur chez le chien: un modèle spontané de neuropathie sensitive.**

### Auteurs :

Jocelyn Plassais (1), Thomas Derrien (1), Manon Paradis (2), Laëtizia Lagoutte (1), Solenne Correard (1), Eric Guaguère (3), Alix Pommier (1), Benoît Hedan (4), Christophe Hitte (1), Pascale Quignon (4), Catherine André (1)

1. Equipe "Génétique du chien" - IGDR, UMR6290/CNRS/Université de Rennes 1, Rennes, France
2. Department of Clinical Sciences, Faculté de Médecine Vétérinaire - University of Montreal, St-Hyacinthe, Canada
3. , Clinique Vétérinaire Saint Bernard, Lomme, France
4. Equipe , UMR6290/CNRS/Université de Rennes 1, Rennes, France

**Mots clefs :** neuropathie, NGS, modèle génétique, ARN non codant

### Résumé :

Chez l'Homme, il existe de nombreuses formes de neuropathies périphériques héréditaires, associées ou non à une perte de sensibilité à la douleur et accompagnées parfois d'automutilation. Bien que plusieurs gènes aient déjà été découverts, ils n'expliquent cependant pas l'ensemble des patients atteints par ces neuropathies sensibles. Des neuropathies similaires existent aussi chez le chien où plusieurs races sont prédisposées à certaines formes. Cette prédisposition génétique est la conséquence directe des croisements consanguins et de l'utilisation massive de chiens champions pour la reproduction. Chez le chien, les signes cliniques apparaissent vers 4 mois et se traduisent par une insensibilité à la douleur observée uniquement aux niveau des pattes et accompagnée la plupart du temps de mutilations des doigts. L'étude des pedigrees de ces chiens a permis de confirmer un modèle de transmission autosomique récessif. Grâce à la biobanque cani-DNA ([doggenetics.genouest.org](http://doggenetics.genouest.org)), nous avons collecté 300 prélèvements sanguins de chiens de chasse puis génotypé 30 chiens atteints et 30 chiens contrôles avec des puces Illumina (HD 170000 SNP array). Une étude d'association génétique (GWAS) a mis en évidence un locus de 1,5 Mb, significativement associé à cette neuropathie ( $p$ -value corrigée par Bonferroni =  $2.5 \times 10^{-6}$ ). Chez l'Homme, ce locus n'est pas connu pour être associé à ce type de neuropathie périphérique sensitive. La capture suivie du séquençage haut-débit (NGS) du locus chez 4 chiens atteints et 4 chiens contrôles a permis d'identifier un seul variant qui ségrége parfaitement avec la maladie dans la population de chiens de chasse puis nous avons répliqué ces résultats dans une population de 900 chiens de races différentes. Ce variant est localisé dans la séquence exonique d'un ARN long non codant pour des protéines (lncRNA) identifié par séquençage de transcriptome (RNASeq) et situé en amont (90 kb) d'un gène impliqué dans les mécanismes moléculaires de la douleur chez l'Homme. L'étude fonctionnelle de cet ARN non codant et de l'effet de sa mutation sur le gène candidat est en cours. Ce travail, utilisant le modèle génétique canin, offre ainsi une réelle opportunité d'identifier non seulement un nouveau mécanisme de régulation génique faisant intervenir un ARN non codant, et aussi une nouvelle voie métabolique impliquée dans ce type de neuropathies sensibles ainsi que dans le métabolisme de la douleur.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

**#3429 : Occurrence simultanée de deux mutations pathogènes de l'ADN mitochondrial responsable de la maladie de Leber : la foudre peut-elle frapper 2 fois ? Une origine nucléaire ?**

### Auteurs :

Sonia Bensaber (1), Céline Bris (1), Valérie Desquret - Dumas (1), Pierre Lebranchu (2), Catherine Cochard-Marianowski (3), Naïg Gueguen (1), Patrizia Bonneau (1), Pascal Reynier (1), Vincent Procaccio (1)

1. Département de biochimie et génétique, CHU d'Angers, Angers, France
2. Service d'ophtalmologie, CHU de Nantes, Nantes, France
3. Service d'ophtalmologie, CHU de Brest, Brest, France

**Mots clefs :** ADN mitochondrial, Neuropathie optique héréditaire de Leber

### Résumé :

La neuropathie optique héréditaire de Leber (NHOL) est une maladie mitochondriale se manifestant sous la forme d'une baisse brutale de la vision d'un œil évoluant rapidement vers la bilatéralisation. La présence d'une des 3 mutations pathogènes principales m.3460G > A, m.11778G > A et m.14484T > C de l'ADN mitochondrial (ADNmt) est à l'origine de plus de 90% des cas de NHOL.

Nous rapportons le cas d'une famille présentant plusieurs cas de NHOL avec une atteinte exclusivement masculine. Le cas index est un homme ayant présenté à l'âge de 15 ans une baisse brutale de la vision de l'œil droit avec une bilatéralisation de l'œil gauche à 1/20 en un mois. Chez ce patient, l'analyse de l'ADNmt a mis en évidence de manière surprenante la présence simultanée de deux mutations primaires : m.11778G > A et m.14484T > C. Onze mois plus tard, il présente une récupération spontanée de la vision (OD:8/10; OG:9/10). L'histoire familiale objective 2 cousins germains et un oncle du côté maternel ayant développé une NHOL aux âges de 17 et 13 ans sans aucune récupération visuelle à ce jour.

La présence conjointe de 2 mutations primaires de NHOL est un fait très rare et particulièrement surprenant. L'analyse de tous les membres de la famille montre systématiquement la mutation m.14484T > C à l'état homoplasmique et la mutation m.11778G > A à des degrés d'hétéroplasmies variables (mère : 19% ; frère : 22% ; tante : 93% ; cousine non atteinte : 98% ; cousin atteint : 100%) mais dont le niveau d'hétéroplasmie n'est pas strictement corrélée avec la symptomatologie clinique. En lien avec la pénétrance incomplète, l'analyse familiale suggère fortement également l'influence de facteurs exogènes tels que l'imprégnation estrogénique protectrice et des facteurs environnementaux comme le tabac.

De rares cas de familles présentant l'association de deux mutations de NHOL ont été rapportés dans la littérature. Les patients porteurs de la mutation sont des hommes, avec en règle générale la survenue d'une atrophie optique précoce sévère. L'analyse fonctionnelle in vitro de cybrides mitochondriaux pour une de ces études a montré qu'il existait un effet synergique entre les 2 mutations avec une réduction des activités mitochondriales du complexe I chez les doubles mutants, corrélée avec le taux d'hétéroplasmie de la mutation m.11778G > A.

Le mécanisme responsable de la survenue simultanée de 2 mutations pathogènes de l'ADNmt n'est pas connu et aucune étude sur les mécanismes potentiels n'a été réalisée. Nous envisageons la possibilité qu'une anomalie pour un ou plusieurs gènes nucléaires impliqués dans la maintenance de l'ADNmt puisse être responsable de la genèse et accumulation de mutations. L'analyse par séquençage haut débit des gènes de maintenance de l'ADN mitochondrial est en cours afin de vérifier notre hypothèse. Cet exemple met en avant la nécessité d'une analyse systématique de l'ADNmt et l'identification des facteurs exogènes modifiant le phénotype dans les NHOL.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #3432 : Disomie uniparentale maternelle en mosaïque intéressant la totalité du génome chez deux garçons présentant un phénotype Silver-Russell

#### Auteurs :

Sandra Chantot-Bastaraud (1), Solveig Heide-Guihard (1), Madeleine Harbison (2), Véronique Barre (3), Mireille Castanet (4), Frédéric Brioude (5), Walid Abi Habib (5), Boris Keren (6), Yves Lebouc (5), Jean-Pierre Siffroi (1), Irène Netchine (5)

1. Service de Génétique et Embryologie Médicales, Hôpital Armand Trousseau, APHP, UMPC, Paris, France
2. Endocrine Genetics, Adrenal and Steroid Disorders Group, Mount Sinai School of Medicine, New York, Etats-Unis
3. Pédiatrie Néonatale et Réanimation, CHU Charles Nicole, Rouen, France
4. Département de Pédiatrie Médicale, CHU Charles Nicole, Rouen, France
5. Service d'Explorations Fonctionnelles Endocriniennes, Hôpital Armand Trousseau, APHP, UMPC, Paris, France
6. Département de Génétique et Cytogénétique, Groupe Hospitalier Pitié Salpêtrière, APHP, UPMC, Paris, France

**Mots clefs :** Disomie uniparentale genome entier, Syndrome de Silver-Russell, mosaïque

#### Résumé :

De très rares cas de patients porteurs de mosaïque constituée d'une lignée isodisomique maternelle du génome entier et d'une lignée cellulaire normale biparentale ont été décrits à ce jour (Stain *et al*, Yamazawa *et al*, Conlin *et al*). Nous rapportons deux nouveaux cas de mosaïque 46,XX/46,XY chez lesquels l'analyse en SNP-array a révélé la coexistence de deux génotypes pour l'ensemble des autosomes en rapport avec la présence de deux lignées cellulaires chez ces individus : une lignée 46,XY biparentale et une lignée 46,XX uniparentale isodisomique pour la totalité du génome maternelle.

Le premier patient a été adressé au laboratoire en raison d'un phénotype évocateur de syndrome de Silver Russell. Il s'agissait d'un garçon sans anomalie des organes génitaux externes ni pigmentation cutanée anormale. L'analyse en SNP-array de l'ADN extrait du sang périphérique a révélé l'existence de 2 génotypes différents pour l'ensemble des autosomes et d'un haplotype unique pour le chromosome X, en l'absence d'anomalie de nombre de copie (profil normal du logR ratio sur l'ensemble des autosomes). Le pourcentage de cellules XX dans le sang périphérique a été évalué entre 5 et 10%. Une analyse en FISH avec des sondes centromériques des chromosomes X et Y a montré que ce taux de cellules était inférieur à 5% sur un frottis sanguin mais atteignait environ 30% sur les cellules issus d'un frottis buccal.

Le second patient a été adressé au laboratoire en raison d'un phénotype sévère de syndrome de Silver-Russell associé à la présence d'anomalies cutanées évocatrices de mosaïque. Des analyses en FISH sur les fibroblastes cutanés avaient précédemment révélé l'existence d'un mosaïcisme de type XX/XY alors que le caryotype sanguin était homogène 46,XY. L'analyse en SNP-array sur l'ADN extrait du sang périphérique était sans particularité comme celle réalisée sur l'ADN extrait de fibroblastes cutanés prélevés en zone pigmentée. En revanche, l'analyse en SNP-array réalisée sur l'ADN extrait de fibroblastes cutanés prélevés en zone non pigmentée a révélé l'existence de 2 génotypes différents pour l'ensemble des autosomes en l'absence de variation de nombre de copie, profil compatible avec la présence d'une lignée cellulaire isodisomique maternelle genome entier dans environ 10% des cellules analysées.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #3438 : Réseaux de gènes interrompus par des mutations de novo chez des patients présentant une encéphalopathie épileptique ou une déficience intellectuelle

#### Auteurs :

Andrée Delahaye-Duriez (1), Kirill Shkura (2), Prashant Srivastava (2), Liisi Laaniste (2), Michael R. Johnson (2), Enrico Petretto (3)

1. Institute of Clinical Science, Imperial College of London, London, Royaume Uni
2. Division of Brain Sciences, Imperial College of London, London, Royaume Uni
3. Graduate Medical School, Duke-NUS , Singapore, Singapour

**Mots clefs** : réseaux de gènes, co-expression, transcriptome, cerveau, mutations de novo, exome, encéphalopathie épileptique, déficience intellectuelle

#### Résumé :

L'étude de la génétique des encéphalopathies épileptiques (EE) et des déficiences intellectuelles (DI) a été jusqu'ici basée sur l'analyse de gènes en considérant chaque variant génétique individuellement. L'évolution des techniques de séquençage permet aujourd'hui d'adopter des approches plus systémiques en intégrant les données du génome à celles du transcriptome et du protéome, et en considérant les gènes en réseaux (groupes ou modules de gènes).

Les données d'expression de 9 régions du cerveau issues de 88 individus avec examen neuropathologique normal (UK Brain Expression Consortium, Affymetrix Human Exon 1.0 ST Array, GSE46706) ont été analysées en utilisant l'approche WGCNA « Weighted Gene Correlation Network Analysis ». Plus de 300 modules de gènes co-exprimés dans une ou plusieurs régions du cerveau ont ainsi été identifiés.

Les mutations *de novo* (faux-sens, non-sens et au niveau des sites d'épissage) issues de plusieurs séries de données d'exomes entiers ont été collectées pour 356 trios (enfant et parents) avec enfant atteint d'EE (EPGP/Epi4K Consortiums), 192 trios avec DI (Rauch et al. 2012, de Ligt et al. 2012, Hamdan et al. 2014), 1133 trios avec anomalie du développement (étude DDD « Deciphering Developmental Disorder », Wright et al. 2014), et 1891 trios de témoins (à partir de 7 études publiées).

Les modules de gènes enrichis en mutations *de novo* chez les patients présentant une EE ou une DI ont été analysés par différentes méthodes : enrichissements fonctionnels (GO « Gene ontology » et KEGG), conservation de la co-expression dans des cerveaux murins, superposition aux réseaux d'interactions protéine-protéine (GeneMANIA et MetaCore), dynamique d'expression dans le cerveau au cours du développement (GSE25219).

Au total, les gènes interrompus par des mutations *de novo* chez des patients présentant une EE ou une DI appartiennent à des réseaux de gènes co-exprimés dans certaines régions du cerveau pendant le développement et en post-natal. Ces résultats montrent une convergence non aléatoire de facteurs génétiques impliqués dans les EE et les DI avec des réseaux fonctionnels de gènes et de protéines sous l'influence d'une régulation étroite dans le cerveau pendant le développement.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

**#3441 : Développement d'une méthode NGS pour le diagnostic des érythrocytoses congénitales inexplicées.**

### Auteurs :

Fabrice AIRAUD (1), Céline GARREC (1), Solenne DUMONT (1), Ingrid RICORDEAU (1), Sylvie HERMOUET (2), François GIRODON (3), Stéphane BEZIEAU (1), Betty GARDIE (4)

1. Génétique Médicale, CHU de NANTES, NANTES, France
2. Hématologie (Biologie), CHU de NANTES, NANTES, France
3. Laboratoire d'Hématologie, CHU de DIJON, DIJON, France
4. Centre de Recherche en Cancérologie Nantes Angers, Ecole Pratique des Hautes Etudes, NANTES, France

**Mots clefs :** Erythrocytose, NGS, Haloplex

### Résumé :

#### Contexte :

Les érythrocytoses, ou polyglobulies, sont caractérisées par un excès de production de globules rouges d'origine primaire (anomalie des progéniteurs érythroïdes) ou secondaire (surproduction d'érythropoïétine régulée par la voie de l'hypoxie). Elles peuvent être acquises ou héréditaires et peuvent être associées à de nombreuses complications (thromboses, hypertension artérielle pulmonaire, développement de tumeurs). A ce jour, 8 gènes ont été retrouvés mutés mais 80% des cas restent sans cause connue. Afin de garantir un diagnostic et un suivi approprié des patients, nous avons mis en place un recrutement national et un test NGS au laboratoire de Génétique Moléculaire du CHU de Nantes.

#### Technologie :

Au laboratoire, la préparation de librairie avec le kit HaloPlex<sup>®</sup> d'Agilent Technologies est déjà utilisée dans le cadre du diagnostic de diverses pathologies (panels "cancer du côlon", "trouble du rythme cardiaque", etc.). L'expérience et l'expertise acquises et surtout la rapidité de mise en place du test NGS qui en découle, nous ont fait choisir ce type de préparation de librairie dans le cadre de ce projet. Cette technique repose sur la digestion de l'ADN génomique (extrait à partir du sang total périphérique), les produits des digestions sont ensuite rassemblés et les fragments d'intérêts sont capturés grâce aux sondes fournies dans le kit. L'intégration des adaptateurs et des indexes se fait ensuite par PCR. Le séquençage est réalisé sur un MiSeq d'Illumina en 2x150pb V2 qui permet de tester 23 patients par run en garantissant une profondeur de lecture diagnostique minimale de 30X. Le panel de gènes testés comporte les 8 gènes déjà décrits, ainsi qu'une série de 9 gènes candidats. Pour l'analyse des résultats, un pipeline bioinformatique approprié a été créé.

#### Résultats :

Actuellement, deux séries de 23 patients ont été analysées. Aucune mutation clairement délétère déjà décrite ou de type "mutation stop" ou "décalage du cadre de lecture" n'a été identifiée. Cependant, de nombreux variants de significations inconnues avec un effet potentiel sur l'épissage ou la fonction de la protéine ont été identifiés. Certains de ces variants feront l'objet d'une étude fonctionnelle. Ces variants sont validés sur un second prélèvement buccal par séquençage Sanger afin de confirmer leur nature constitutionnelle. Des études de ségrégation vont être réalisées pour les patients avec une histoire familiale connue.

#### Conclusions :

La mise en place d'un test NGS basé sur le kit HaloPlex dans notre laboratoire permet l'étude des gènes connus et potentiellement impliqués dans les érythrocytoses. Cependant, cette technique ne permet pas l'étude des grands réarrangements et le transfert vers une autre technique avec cette possibilité est donc envisagé. Les résultats obtenus confirment cependant l'hétérogénéité génétique de cette pathologie et la nécessité d'investigations complémentaires.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #3447 : Recherche des bases génétiques d'une épilepsie canine : un modèle pour les épilepsies humaines.

#### Auteurs :

Pascale Quignon (1), Solenne Correard (2), Anaïs Grall (2), Catherine Escriou (3), Vidhya Jagannathan (4), Christophe Hitte (2), Tosso Leeb (5), Catherine André (2)

1. Equipe , UMR6290/CNRS/Université de Rennes 1, Rennes, France
2. Equipe "Génétique du chien" - IGDR, UMR6290/CNRS/Université de Rennes 1, Rennes, France
3. Unité de Médecine, Neurologie et troubles du comportement, Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon, Marcy l'étoile, France
4. Institut de génétique, Université de Bern, Bern, Suisse
5. Institut de génétique, Université de Bern, Bern, France

**Mots clefs** : chien, épilepsie, liaison génétique, séquençage

#### Résumé :

Le chien, par le grand nombre de races distinctes correspondant chacune à un isolat génétique, représente un puissant modèle pour identifier les gènes et les allèles responsables de maladies génétiques. La force du modèle est accentuée par l'aspect spontané des maladies canines, leur caractère souvent spécifique de races, leur forte fréquence (> 20%) et leur homologie avec des maladies génétiques humaines. Chez le chien, l'épilepsie représente le désordre neurologique le plus répandu dans l'espèce avec 5% de chiens atteints, et une cinquantaine de races prédisposées. La forte prévalence de l'épilepsie dans ces races laisse supposer une origine génétique. Chaque race touchée présente une forme d'épilepsie spécifique, reflet d'un événement génétique fondateur à la création de la race. En outre, la découverte de l'implication du gène *EPM2B* dans la maladie de Lafora chez l'homme et dans l'épilepsie du Teckel à poil dur, ainsi que *LGI2* chez le Lagotto Romagnolo, démontre l'intérêt de ce modèle. L'étude génétique des différentes épilepsies dans différentes races permettrait d'identifier les gènes impliqués chez le chien, ceux-ci devenant de bons gènes candidats pour les épilepsies humaines. Des études cliniques et épidémiologiques de cette maladie chez le Grand Bouvier Suisse indiquent qu'environ 10% de la race souffrent d'une épilepsie généralisée avec des convulsions tonico-cloniques, qui se transmettraient selon un mode autosomique récessif. Un pedigree de 103 Grands Bouviers Suisses, comprenant 24 chiens atteints d'épilepsie, a permis de réaliser une analyse de liaison génétique paramétrique, par le génotypage de 340 marqueurs microsatellites puis de 170 000 SNP, répartis uniformément sur l'ensemble du génome. Ces analyses ont permis d'identifier un locus sur le chromosome 16 canin avec 2 SNP adjacents présentant un Lodscore supérieur à 3,9 ( $\theta=0,01$ ). La région chromosomique humaine, orthologue, ne comporte pas de gène identifié comme responsable d'épilepsie humaine à ce jour. Afin de rechercher des mutations ou des remaniements chromosomiques, le séquençage du génome complet d'un chien atteint a été effectué. La séquence de ce chien a été comparée à celles de 108 chiens d'autres races, non atteintes d'épilepsie, afin d'identifier les variants homozygotes spécifiques. Plus de 3000 variants ont été identifiés dans le locus du CFA16 (20Mb entre les deux SNP les plus significatifs). Ces variants ont été classés selon le gène associé et l'effet prédit. Le séquençage des variants les plus pertinents est actuellement en cours. En parallèle, nous constituons une banque d'ADN et de tissus de chiens épileptiques de toutes races, qui nous permettra de valider le(s) variant(s) impliqué(s) et de réaliser des études génétiques et fonctionnelles d'autres formes d'épilepsies dans d'autres races pour identifier à terme, de nouveaux gènes impliqués chez l'Homme.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #3450 : L'expérience de l'exome « CFTR » : validation pour le diagnostic et identification de 22 nouvelles mutations ponctuelles et grands réarrangements

#### Auteurs :

Emmanuelle GIRODON (1), Marion HELLER (2), Natacha GAITCH (2), Brigitte MARTINEZ (2), Christine GAMEIRO (2), Florence HOURIEZ (2), Ophélie SAID (2), Audrey BRIAND (2), Thierry BIENVENU (2)

1. Biologie et Génétique Moléculaire, Cochin, APHP, Paris, France
2. Biologie et Génétique Moléculaires, Cochin, APHP, Paris, France

**Mots clefs :** Mucoviscidose, CFTR, NGS

#### Résumé :

L'introduction des techniques de séquençage à haut et moyen débit (NGS) révolutionne le diagnostic moléculaire des maladies héréditaires en élargissant considérablement l'offre de soins et l'accès à un diagnostic pour de nombreux patients. Dans le contexte du diagnostic moléculaire de la mucoviscidose et des maladies associées, le séquençage de l'exome *CFTR*, sans pour autant modifier les stratégies de diagnostic, permet d'identifier simultanément pour un grand nombre de patients les mutations ponctuelles et les réarrangements de grande taille à type de délétions ou duplications. Compte-tenu de la grande sensibilité des méthodes de référence dans cette maladie, la validation du NGS en contexte diagnostique est critique.

Le séquençage de l'exome *CFTR* a été mis en place au laboratoire de l'hôpital Cochin en septembre 2013. Il repose sur un panel Ion AmpliSeq™ (LifeTechnologies -LT-) de 102 couples d'amorces et couvre les 27 régions codantes ainsi que des régions introniques profondes ciblant quelques mutations et délétions récurrentes.

La validation initiale a consisté à analyser 94 échantillons dont 62 en double avec une méthode de référence et 6 pour des comparaisons inter-laboratoires. Les 136 variants connus ont été correctement identifiés par l'utilisation d'un panel d'outils bioinformatiques, de même que les 3 délétions connues selon un programme Excel de ratios de profondeurs. Deux variants non repérés par la technique de scanning ont été identifiés. La robustesse a été évaluée sur différents types d'échantillons (incluant des échantillons fœtaux) et différentes techniques d'extraction d'ADN. La méthode utilisée en routine, en seconde intention après la recherche de mutations fréquentes, fait l'objet d'une validation continue, intégrant des contrôles internes de qualité variés, à chaque série. Au total, 560 échantillons ont été analysés, pour des indications diverses. 22 nouvelles anomalies dont une grande délétion ont été identifiées, associées à des phénotypes divers et correspondant à différents types de mutations. Les difficultés techniques rencontrées concernent d'une part la détection des insdel dans certaines régions d'homopolymères, imposant l'utilisation de plusieurs outils bioinformatiques et l'application de filtres peu stringents pour l'analyse, et d'autre part l'identification du variant d'épissage fréquemment associé à la pathologie CFTR. Les délétions comme les duplications sont bien identifiées. 38 patients avec un diagnostic fortement suspecté de mucoviscidose ou pathologie CFTR ont fait l'objet d'une analyse en double par séquençage Sanger, et aucune autre mutation n'a été identifiée.

En conclusion, le séquençage de l'exome *CFTR* se substitue avantageusement aux méthodes de référence pour l'identification de mutations rares dans la mucoviscidose et la pathologie CFTR. L'interprétation de la signification clinique des variants restant cependant un point critique, l'organisation du réseau GenMucoFrance garde toute son importance.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #3454 : Déficiences primaires et secondaires du métabolisme des neurotransmetteurs de type monoamines biogènes et biopéptidiques

#### Auteurs :

Laurence Christa (1), Jean-Baptiste Arnoux (2), Magalie Barth (3), Alice Kuster (4), Lena Damaj (5), Sylvie Odent (6), Nathalie Bednarek Weirauch (7), Nadia Bahi-Buisson (8), Jean-François Benoist (9), Aline Cano (10), Christelle Corne (11), Delphine Lamireau (12), Loïc De Pontual (13), Hervé Testard (14), Valérie Serre (15), Vassili Valayannopoulos (16), Marie-Odile Krebs (17), Isabelle Desguerre (8), Pascale De Lonlay (16), Anne-Sophie Lebre (18)

1. Biochimie métabolique et protéomique, Hôpital Necker Enfants Malades et Université Paris Descartes, Paris, France
2. Centre référence Maladies héréditaires du métabolisme de l'enfant et de l'adulte, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France
3. Service de génétique, Centre Hospitalier Universitaire, Angers, France
4. Réanimation pédiatrique, Centre Hospitalier Universitaire, Nantes, France
5. Service de pédiatrie, Centre Hospitalier Universitaire, Rennes, France
6. Service de génétique, Centre Hospitalier Universitaire, Rennes, France
7. Services de pédiatrie A et B, CHU Reims, American Memorial Hospital, Reims, France
8. Neuropédiatrie, Hôpital Necker Enfants Malades et Université Paris Descartes, Paris, France
9. Biochimie-Hormonologie, Hôpital Robert Debré, Paris, France
10. Centre référence Maladies héréditaires du métabolisme, Centre Hospitalier Universitaire, Marseille, France
11. Biochimie, toxicologie et pharmacologie, Centre Hospitalier Universitaire, Grenoble, France
12. Réanimation pédiatrique, Centre Hospitalier Universitaire, Bordeaux, France
13. Service de pédiatrie, Hôpital Jean Verdier, Paris, France
14. Service de pédiatrie, Centre Hospitalier Alpes Léman, Contamine Sur Arve, France
15. Jacques Monod Institute, UMR7592 CNRS, Université Paris Diderot, Paris, France
16. Centre référence Maladies héréditaires du métabolisme de l'enfant et de l'adulte, Hôpital Necker Enfants Malades et Université Paris Descartes, Paris, France
17. Neurologie, Hôpital Sainte Anne, Paris, France
18. Service de génétique, CHU Reims, Hôpital Maison Blanche, REIMS, F-51092, France, Reims, France

**Mots clefs :** maladie métabolique, traitable, neurotransmetteurs, monoamines biogènes, biopéptidiques

#### Résumé :

**Objectifs :** Les déficiences du métabolisme des neurotransmetteurs (NT) de type monoamines biogènes et biopéptidiques sont des pathologies métaboliques pédiatriques traitables. Afin de déterminer le rendement diagnostique et de progresser dans la connaissance de ces pathologies, nous avons réalisé une étude rétrospective d'une cohorte de patients pour lesquels des dosages des NT dans le LCR avaient été réalisés.

**Méthodes :** Nous avons inclus 1200 patients adressés de différents centres en France au laboratoire de Biochimie de l'Hôpital Necker pour une étude des NT sur LCR, entre septembre 2008 et septembre 2015. Nous avons démembré la cohorte de patients d'un point de vue clinique, biochimique et génétique et avons déterminé des critères cliniques pertinents ainsi que des profils biochimiques évocateurs basés sur 6 paramètres (sang : Phénylalanine ; LCR : HVA, HIAA, BP, NP, MTHF).

**Résultats/discussion :** Des profils anormaux des NT sur LCR ont été identifiés chez 17% des patients (206/1200). Une cause génétique ou non génétique a été identifiée chez 24,5% de ces 206 patients (51/206) : 15,5% avaient un déficit primaire en NT (32/206) et 9% avaient un déficit secondaire en NT (19/206). Comme le déficit en décarboxylase des acides aminés aromatiques (gène *DDC*) est emblématique d'un déficit combiné du métabolisme de la dopamine, de la sérotonine et des catécholamines, nous avons validé notre approche diagnostique sur notre série de 9 patients avec mutations *DDC*. L'identification de causes génétiques de déficiences secondaires en NT nous a permis de choisir avec pertinence la liste des gènes à inclure dans un panel NGS.

**Conclusion :** Il s'agit de la première série française de patients avec déficiences primaires et secondaires du métabolisme des neurotransmetteurs de type monoamines biogènes et biopéptidiques. La mise en place en routine d'un panel de diagnostic moléculaire par NGS est prévue au CHU de Reims d'ici fin 2015. Il nous permettra d'améliorer le rendement diagnostique de ces pathologies métaboliques et le cas échéant de proposer un traitement.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #3462 : Amélioration du diagnostic dans les dystrophies des ceintures: L'apport du séquençage haut débit et des tests fonctionnels

#### Auteurs :

Virginie Kergourlay (1), Eugénie Dionnet (2), Nicolas Lévy (2), Martin Krahn (2), Marc Bartoli (2)

1. , CSHL, Cold Spring Harbor, Etats-Unis
2. Myologie Translationnelle, Aix Marseille University, Marseille, France

**Mots clefs :** dysferline, calpaine, épissage, séquençage

#### Résumé :

Les dystrophies musculaires des ceintures (LGMD) sont des pathologies génétiques du muscle squelettique. Tous les patients présentent une atrophie musculaire proximale progressive qui entraîne des difficultés dans la marche et peut aboutir à la perte totale de locomotion. Les gènes responsables de ces pathologies hétérogènes sont nombreux. A l'heure actuelle, le diagnostic moléculaire ne peut être posé avec certitude seulement pour un patient sur cinq. Cet état de fait est la conséquence du grand nombre de gènes incriminés, leur taille et le spectre mutationnel. Le séquençage à haut débit prend rapidement une place importante dans la pratique clinique en raison de la possibilité de l'exploration simultanée de plusieurs régions génomiques. Plus de 30 gènes sont impliqués dans les formes dominantes ou récessives des LGMD, ce qui signifie que de nombreux gènes doivent être explorés pour établir le diagnostic chez un patient atteint de myopathie. En permettant d'obtenir des informations de séquence sur de nombreux gènes en même temps, le séquençage à haut débit accélère grandement le processus de diagnostic des myopathies par rapport à l'approche classique «gène-après-gène» par séquençage Sanger. Nous présenterons des études récentes qui ont permis de diagnostiquer de nombreuses cohortes de patients atteints de troubles musculaires. Cependant, l'identification fréquente de variant faux-sens reste un problème car elle nous ramène toujours à la double possibilité d'un effet soit délétère soit non-pathogène. Ces difficultés d'interprétation compliquent le diagnostic, car une fraction de ces mutations peut être délétère en affectant l'épissage de l'ARNm. Pour passer outre, nous avons développé un test fonctionnel d'épissage basé sur la construction d'un mini-gène qui vérifie, à l'épissage, l'incidence de variant faux-sens identifiés chez les patients. Chaque construction contient un segment génomique englobant un ou deux exons d'intérêt, flanqués de leurs séquences introniques. Après transfection du vecteur dans des cellules en culture, les transcrits générés à partir du type sauvage et muté sont comparés par analyse de RT-PCR et séquençage. Cet outil permettra d'interpréter les mutations faux-sens et d'épissage pour les 140 exons analysables des principaux gènes associés à une LGMD. Nous présenterons les résultats déjà obtenus pour CAPN3 et DYSF responsables de LGMD2A et LGMD2B respectivement. Par conséquent, son utilisation permettra d'améliorer le diagnostic et de fournir une meilleure compréhension de la physiopathologie des LGMD.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

**#3465 : Deux variants faux-sens identifiés dans le gène PQBP1 dans des familles avec déficience intellectuelle liée à l'X affecte l'interaction entre PQBP1 et la protéine du spliceosome U5-15kD**

### Auteurs :

Angélique Quartier (1), mineyuki (2), Amélie Piton (1), Vera Kalscheuer (3), Patrick Edery (4), H Okasawa (5), Jean-Louis Mandel (1)

1. Département de neurogénétique médecine translationnelle, IGBMC, Illkirch, France
2. Faculty of Pharmaceutical Sciences, University of Toyama; 2630, Sugitani, Toyama 930-0194, Japan, , Toyama, Japon
3. Max Planck Institute for Molecular Genetics Department Human Molecular Genetics , , Berlin, France
4. Département de Génétique Médicale, Hospices Civils de Lyon, Bron, France, , Lyon, France
5. Department of Neuropathology, Medical Research Institute, Tokyo Medical and Dental University; 1-5-45, Yushima, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8510, Japan, , Tokyo, Japon

**Mots clefs :** PQBP1

### Résumé :

Plus d'une dizaine de mutations, pour la plupart tronquantes, ont été décrites dans le gène *PQBP1* (*Polyglutamine-binding protein 1*), responsables de déficience intellectuelle syndromique liée à l'X. Les manifestations cliniques associées à cette déficience intellectuelle comprennent une microcéphalie, un retard de croissance, un profil maigre et des caractéristiques faciales particulières (syndrome de Rempennig/ syndrome de Golabi-Ito-Hall). Le gène *PQBP1* code une protéine qui joue un rôle dans la régulation de l'expression des gènes via son interaction avec l'ARN-polymérase II et différents facteurs de transcription, mais également la régulation de l'épissage des ARN messagers et leur traduction. Jusqu'à récemment, une seule mutation faux-sens, localisée dans le domaine WW, important pour l'activité de régulation de la transcription, avait été décrite dans une famille avec déficience intellectuelle. Nous avons récemment identifié une variation faux-sens, c.731C > T (p.Pro244Leu), chez deux frères présentant des caractéristiques cliniques évocatrices d'une déficience intellectuelle de type *PQBP1* (Redin et al., *J Med Genet*, 2014). Cette variation faux-sens affecte un acide aminé localisé dans le domaine d'interaction avec la protéine du spliceosome U5–15kD (U5 snRNP-specific 15kD protein). Une autre variation faux-sens affectant l'acide aminé précédent, c.727C > T, (p.Arg243Trp) a récemment été décrit dans une famille avec déficience intellectuelle liée à l'X (Hu et al. *Mol Psy* 2015). Nous avons pu montrer que ces deux mutations faux-sens diminuaient de façon modérée l'interaction avec la protéine U5–15kD, suggérant qu'elles pourraient avoir des conséquences sur la régulation de l'épissage. Nous avons entrepris d'étudier l'épissage d'ARNm connus pour être régulés par PQBP1 dans des cellules lymphoblastoïdes de patients porteurs de la mutation p.Pro244Leu. Nous avons également entrepris d'introduire les deux mutations faux-sens p.Arg243Trp et p.Pro244Leu dans des cellules neuronales (BE(2)C, SH-SY-5Y) par CRISPR/Cas9 et d'étudier leur conséquence de façon globale sur l'épissage des ARN messagers (deep RNAseq).

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

**#3473 : Etude du gène GALNS chez 40 patients atteints de maladie de Morquio A : nouvelles mutations et apport de l'ACPA dans la caractérisation de deux réarrangements de grande taille chez un patient**

### Auteurs :

Roseline Froissart (1), Sophie Vasseur (1), Nicolas Chatron (2), Nathalie Guffon (3), Geneviève Baujat (4), Audrey Labalme (2), Damien Sanlaville (2), Christine Vianey Saban (1)

1. Laboratoire des Maladies Héréditaires du Métabolisme, Centre de Biologie et de Pathologie Est, CHU Lyon, Bron, France
2. Service de Cytogénétique, Centre de Biologie et de Pathologie Est, CHU Lyon, Bron, France
3. Service des Maladies Héréditaires du Métabolisme, Hôpital Femme Mère Enfant, CHU Lyon, Bron, France
4. Centre de référence maladies osseuses constitutionnelles, Service de Génétique, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France

**Mots clefs :** Morquio A, mucopolysaccharidose IVA, gène GALNS, maladie lysosomale, ACPA

### Résumé :

La maladie de Morquio A (mucopolysaccharidose IVA) est une maladie autosomique récessive due au déficit d'une enzyme lysosomale, la N-acétylgalactosamine-6-sulfatase (G6S), ce qui entraîne l'accumulation de mucopolysaccharides partiellement dégradés dans de nombreux organes. L'atteinte est multisystémique mais l'atteinte ostéoarticulaire est au premier plan avec dysplasie spondylo-épimétophyse progressive. La sévérité clinique est variable, le début des symptômes étant précoce (< à 1 an) dans la forme sévère, ou plus tardif (2<sup>e</sup> décennie ou âge adulte) et plus progressif dans la forme atténuée, mais des formes intermédiaires ont été décrites. Les signes extra-osseux sont plus tardifs (cornée, système auditif, valves cardiaques) et l'intelligence est préservée. L'hétérogénéité moléculaire est très importante (plus de 280 mutations décrites sur le gène *GALNS*). Nous rapportons une série de 40 patients dont le diagnostic a été établi par la mise en évidence du déficit de l'activité G6S dans les leucocytes. L'étude du gène *GALNS* réalisée par séquençage des régions codantes a permis d'identifier 41 altérations différentes (dont 61% de faux sens), et 16 d'entre elles sont nouvelles : 9 faux sens, 1 stop, 2 duplications d'1 pb, 2 mutations introniques et 2 altérations géniques de très grande taille chez un même patient. Un seul allèle n'a pu être identifié. Une homozygotie a été retrouvée dans 64% des cas. Il n'y a pas de mutation fréquente, la plus fréquente de notre série étant p.A492T (9% des allèles). Dans un cas, le diagnostic a été établi en anténatal sur signes d'appel échographique (anasarque) et un génotype sévère a été identifié (p.Q374X homozygote). Pour un patient atteint d'une forme très sévère, le séquençage a montré l'absence d'amplification des exons 9 à 13. Les techniques de Southern, PCR inverse et NGS ont permis d'identifier la présence sur 2 allèles différents d'altérations géniques de grande taille, ce qui a été confirmé par Analyse Chromosomique sur Puce à ADN (ACPA) et les points de cassure ont été précisés. Le patient est hétérozygote composite pour : 1<sup>o</sup>) un allèle recombinant comportant une délétion des exons 9 à 14 du gène *GALNS* et des gènes *APRT*, *CDT1* et des 30 premiers exons du gène *PIEZO1*, ainsi qu'une duplication de l'exon 5 du gène *GALNS* (d'origine maternelle), soit au total une délétion de 111,44 kb, et 2<sup>o</sup>) une délétion intragénique incluant les exons 2 à 13 du gène *GALNS* d'origine paternelle. Même si des délétions ou réarrangements de grande taille ont déjà été décrits dans le gène *GALNS*, la présence de 2 allèles de ce type chez un même patient n'a jamais été rapportée. La fréquence de ces altérations est probablement sous-estimée et elles devraient être recherchées en cas d'allèle restant non identifié par séquençage classique. Le séquençage des points de cassure facilite un éventuel diagnostic prénatal et est également utile pour mieux comprendre les mécanismes moléculaires à l'origine de ces réarrangements.

### #3477 : Mécanisme moléculaire de la susceptibilité génétique à la polyarthrite rhumatoïde

#### Auteurs :

Anna Serova-Erard (1), Chang Zaho (1), Jean-Jacques Dubost (1), Martin Soubrier (1), Isabelle Creveaux (1), François Cornéris (1)

1. GenHotel-Auvergne ea4679, Faculté de Médecine, Clermont-Ferrand, France

**Mots clefs :** polyarthrite rhumatoïde, génétique

#### Résumé :

##### Introduction

La polyarthrite rhumatoïde (PR) est une maladie complexe faisant intervenir de multiples facteurs génétiques et des facteurs d'environnement, seul le tabac étant établi. Le catalogue des résultats d'études d'association pangénomiques (GWAS) recense 159 loci de susceptibilité génétique, le facteur causal n'étant précisé, en raison du phénomène du déséquilibre de liaison (DL) que pour les deux seuls impliquant une variation codante, au sein des gènes HLA-DRB1 et PTPN22 ([www.ebi.ac.uk/gwas](http://www.ebi.ac.uk/gwas)). Le mécanisme moléculaire de la susceptibilité reste à préciser. Un consortium international a présenté en février 2015 une méthode originale fondée sur l'analyse des GWAS pour identifier le SNP (single nucleotide polymorphism) causal au sein d'un locus de susceptibilité à une maladie complexe, appliquée à 21 maladies dysimmunitaires dont la PR, rapportant le facteur « probablement » causal (probabilité  $p > 75\%$ ) pour 12% des loci, impliquant dans 60% des cas un enhancer actif dans certaines cellules du système immunitaire (Nature 13835 : 337).

**Objectif :** Analyse détaillée des facteurs causaux proposés pour la PR afin de préciser combien sont situés au sein d'éléments fonctionnels connus.

##### Matériels et méthodes

Les SNPs « causaux » proposés pour la PR ont été extraits des 8741 SNPs publiés. Ils ont été regroupés en loci en fonction des données de leur DL selon les données du projet HapMap pour la population européenne. Pour 5 loci considérés comme établis, les séquences nucléotidiques ont été analysées sur la base de données Ensembl.

##### Résultats

Aucun SNP probablement causal n'a été identifié parmi les 195 SNPs proposés pour la PR, la probabilité de causalité la plus élevée étant de 66% pour le SNP codant de PTPN22. Aucun SNP n'est proposé pour le locus HLA-DRB1. Les 56 « PR-SNPs » dont la probabilité dépasse 10% ont été regroupés en 25 loci. Les SNPs ont chacun été proposés dans des publications antérieures. L'étude détaillée de 5 de ces loci révèle que chacun des SNPs se situe hors d'un élément fonctionnel connu, notamment de enhancer.

##### Conclusion

L'analyse détaillée des nouveaux SNPs causaux proposés pour la PR révèle qu'ils sont chacun hors d'un élément fonctionnel connu. La poursuite des investigations tant génétiques que moléculaires reste nécessaire pour identifier les mécanismes de la susceptibilité à la PR.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #3478 : Paraplégie spastique héréditaire et rétinopathie pigmentaire en rapport avec une anomalie du remodelage des phospholipides – mutations du gène DDHD1

#### Auteurs :

Rodolphe DARD (1), Claire EWENCZYK (1), Claire MEYNIEL (2), Alexandra DURR (1), Giovanni STEVANIN (3), Foudil LAMARI (3), Valérie TOUITOU (4), Fanny MOCHEL (1)

1. Département de Génétique, Groupe Hospitalier La Pitié-Salpêtrière, Paris, France
2. Département de Neurophysiologie, Groupe Hospitalier La Pitié-Salpêtrière, Paris, France
3. INSERM UMR S1127, Institut du Cerveau et de la Moelle épinière, Groupe Hospitalier La Pitié-Salpêtrière, Paris, France
4. Département d'Ophtalmologie, DHU Vision et Handicaps, Groupe Hospitalier La Pitié-Salpêtrière, Paris, France

**Mots clefs :** Paraplégie spastique héréditaire, rétinopathie pigmentaire, DDHD1, phospholipides

#### Résumé :

Les maladies du métabolisme des lipides complexes sont un groupe nosologique récemment décrit dont le phénotype clinique continue de s'enrichir. Les anomalies de synthèse ou de remodelage des lipides complexes (phospholipides et sphingolipides en particulier) peuvent se présenter sous la forme d'atteinte : (1) neurologique, à type de Paraplégie Spastique Héréditaire (PSH) secondaire à la dégénérescence des motoneurones riches en lipides, syndrome extrapyramidal avec accumulation de fer dans les noyaux gris centraux (neurodegeneration with brain iron accumulation, NBIA), neuropathie périphérique axonale ou démyélinisante ; (2) ophtalmologique (cataracte, rétinopathie pigmentaire, dystrophie cone-rod, amaurose congénitale de Leber, maladie de Stargardt ou atrophie optique) ; (3) musculaire et/ou cardiaque ; et (4) cutanées et/ou osseuses. Parmi la grande hétérogénéité génétique des PSH – près de 80 gènes SPG (Spastic Paraplegia Genes) rapportés à ce jour – au moins 13 gènes codant pour des enzymes du métabolisme des lipides complexes sont impliqués dans les PSH autosomiques récessives. Parmi eux, *DDHD1* (*SPG28*, OMIM 614603) code pour la phospholipase A1 impliquée dans le remodelage des phospholipides membranaires. Notre équipe a décrit en 2005 un phénotype de PSH relativement pure (*SPG28*) caractérisé par une atteinte pyramidale lentement progressive débutant dans l'enfance ou l'adolescence, parfois associée à une neuropathie axonale. Nous rapportons un patient *SPG28* présentant une PSH ici complexe et débutant à l'âge adulte, comprenant progressivement une difficulté à la marche en rapport avec une spasticité des membres inférieurs, un syndrome tétrapyramidal, une hypopallesthésie et un syndrome cérébelleux. Après 15 à 20 ans d'évolution le patient a développé une atteinte psycho-cognitive, une héméralopie révélant une atteinte rétinienne touchant les photorécepteurs, avec un hyposignal bipallidal en séquences IRM T2\* évocateur de NBIA. Notre patient issu de parents consanguins présente un variant homozygote c.395dup dans l'exon 1 de *DDHD1*, responsable de l'apparition d'un décalage du cadre de lecture et de l'apparition d'un codon stop anticipé 25 acides-aminés en aval de Gly133, mis en évidence par un panel de gènes dédié aux PSH.

Ce patient vient élargir le phénotype des PSH associées au déficit en phospholipase A1 par son âge tardif de début et, surtout, son atteinte rétinienne. Dans une étude récente d'association, *DDHD1* a par ailleurs été impliqué dans la morphologie du disque optique (Springelkamp *et al.* 2015). Des études lipidomiques de haute résolution sont en cours afin d'identifier des biomarqueurs plasmatiques de cette nouvelle entité neurométabolique.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

**#3479 : Les mutations du gène GAS8 sont responsables de dyskinesies ciliaires primitives avec défaut du complexe de régulation des dynéines**

### Auteurs :

Ludovic Jeanson (1), Lucie Thomas (1), Bruno Copin (2), Jean-Francois Papon (3), Isabelle Sermet-Gaudelus (4), Florence Dastot-Le Moal (2), Philippe Duquesnoy (5), Guy Montantin (2), André Coste (6), Nathalie Collot (2), Sylvie Tissier (2), Annick Clement (1), Estelle Escudier (5), Marie Legendre (5), Serge Amselem (5)

1. Inserm, Sorbonne Universités UMPC Univ Paris 06, UMRS\_933, Hôpital Trousseau, Paris, France
2. U.F. de Génétique moléculaire (Assistance Publique – Hôpitaux de Paris), Hôpital Trousseau, Paris, France
3. Service d'Oto-Rhino-Laryngologie et de Chirurgie Cervico-Maxillo-Faciale (Assistance Publique – Hôpitaux de Paris), Hôpital Bicêtre, Paris, France
4. Service de pneumo-allergologie pédiatrique, (Assistance Publique – Hôpitaux de Paris), Hôpital Necker, Paris, France
5. Inserm, Sorbonne Universités UMPC Univ Paris 06, UMRS\_933 & U.F. de Génétique moléculaire (Assistance Publique – Hôpitaux de Paris), Hôpital Trousseau, Paris, France
6. Service d'Oto-Rhino-Laryngologie et de Chirurgie Cervico-Faciale (Assistance Publique – Hôpitaux de Paris), Hôpital Intercommunal et Groupe Hospitalier Henri Mondor, Paris, France

**Mots clefs :** Dyskinésie ciliaire primitive, cil mobile, complexe de régulation des dynéines, maladie respiratoire

### Résumé :

La dyskinesie ciliaire primitive (DCP) est une ciliopathie autosomique récessive caractérisée par des anomalies de l'ultrastructure et/ou du fonctionnement de l'axonème des cils mobiles et du flagelle des spermatozoïdes. La grande majorité des gènes impliqués dans la DCP est associée à différents phénotypes ultrastructuraux facilement identifiables par microscopie électronique (ME). Plus rarement, le phénotype ultrastructural implique des anomalies de structure qui sont très difficiles à détecter par ME comme par exemple, celles du complexe de régulation des dynéines (CRD) qui relie entre eux les neuf doublets de microtubules externes de l'axonème ciliaire. Nous avons focalisé notre étude sur ce groupe phénotypique pour lequel le diagnostic de DCP peut être particulièrement difficile à établir et avons identifié, chez deux patients indépendants, des mutations bi-alléliques non ambiguës (non-sens) du gène *GAS8* dont l'orthologue chez *Chlamydomonas reinhardtii* code pour une protéine majeure du CRD (DRC4). Ces deux patients présentent une proportion élevée d'axonèmes désorganisés (environ 25% pour une normale de l'ordre de 2%), associée chez l'un d'eux à une perte partielle des bras internes de dynéines. Des expériences d'immunofluorescence réalisées sur les cellules épithéliales respiratoires de ces patients ont révélé une absence de *GAS8* ainsi qu'une délocalisation de LRR48, une autre protéine du CRD (absente du compartiment ciliaire et délocalisée dans le cytoplasme). En revanche, des marqueurs d'autres structures axonémales étaient présents dans les cils (marqueurs des bras internes et externes de dynéine, des ponts radiaires et des complexes d'ancrage des bras internes de dynéine). Ces données sont en accord avec celles du modèle *Chlamydomonas* invalidé pour DRC4 dans lequel l'orthologue de LRR48 (DRC3) est absent des flagelles. Chez les patients porteurs de mutations de *GAS8*, des analyses par vidéomicroscopie à haute vitesse ont révélé des cils hyperkinétiques avec une réduction d'amplitude et une perte partielle de la vague métachronale ciliaire. Au total, cette étude souligne le rôle majeur de *GAS8* dans l'intégrité du CRD. Par ailleurs, l'identification de ce nouveau gène de DCP devrait améliorer le diagnostic de cette affection chez ces patients dont les anomalies ciliaires sont difficilement décelables.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #3480 : Caractérisation fonctionnelle de MAPKBP1, produit d'un nouveau gène candidat pour la Néphronoptise

#### Auteurs :

Maxence Macia (1), Marion Delous (1), Emilie Filhol (1), Pauline Krug (1), Jan Halbritter (2), Philippe Nicoud (3), André Paget (3), Dominique Joly (4), Pierre Saint-Mezard (5), Andreas Sailer (5), Cecile Bredrup (6), Friedhelm Hildebrandt (2), Sophie Saunier (1), Alexandre Benmerah (1)

1. Laboratoire des maladies rénales héréditaires, Institut Imagine, Paris, France
2. Division of Nephrology, Boston Children's Hospital, Boston, Etats-Unis
3. Néphrologie Hémodialyse, BBraun Avitum, Sallanches, France
4. Service de Néphrologie, Hopital Necker, Paris, France
5. Novartis Institutes for Biomedical Research, Novartis Institutes for Biomedical Research, Basel, Suisse
6. Center for Medical Genetics and Molecular Medicine, Haukeland University Hospital, Bergen, Norvège

**Mots clefs :** Néphronoptise, ciliopathie, voie JNK, pôles du fuseau mitotique

#### Résumé :

La Néphronoptise (NPH) est une maladie autosomique récessive, qui se caractérise par des lésions tubulo-interstitielles conduisant à une insuffisance rénale terminale avant l'âge adulte. Les produits des gènes responsables de la NPH, les néphrocystines ou NPHP se localisent et ont un rôle au cil primaire, définissant ainsi la NPH comme une ciliopathie. Nous avons identifié des mutations dans un nouveau gène candidat. Ces mutations ont été détectées dans cinq familles indépendantes, présentant une NPH tardive avec une fibrose rénale importante. Ce gène code MAPKBP1, une protéine très peu étudiée, ayant été décrite comme une protéine d'échafaudage de la voie JNK. MAPKBP1 interagit également avec WDR62, le produit d'un paralogue qui est le second gène le plus fréquemment muté dans les microcéphalies primaire récessives. WDR62 localise aux pôles du fuseau mitotiques (MSP) d'où elle régule l'orientation de l'axe des mitoses via la voie JNK dans le système nerveux central. De façon intéressante, des défauts d'orientation de l'axe des mitoses ont été impliqués dans la formation des kystes rénaux associés aux ciliopathies. Nos analyses par immunofluorescence effectuées dans les lignées cellulaires ainsi que dans les tissus, ont montré que MAPKBP1 n'est pas présente au cil primaire et que les fibroblastes de patients ne présentent pas de défauts de ciliogenèse, indiquant que MAPKBP1 pourrait être le représentant d'une nouvelle famille de NPHP ne possédant pas de fonctions ciliaires. De manière intéressante, nous avons observé que MAPKBP1 est recruté aux MSP au cours des phases précoces de la mitose (prométaphase/métaphase) et que les mutations retrouvées chez les patients affectent le recrutement de MAPKBP1 aux MSP. Ces mutations perturbent également l'interaction de MAPKBP1 avec JNK et/ou WDR62. Nous avons également mis en évidence des défauts dans la voie de réponse aux dommages à l'ADN dans les fibroblastes de patients comme récemment observé dans de nombreux modèles NPHP. L'inactivation de *mapkbp1* chez le poisson zèbre ne conduit à aucun phénotype rénal et l'analyse phénotypique d'un modèle murin est actuellement en cours. Ce dernier modèle devrait nous permettre de mieux caractériser les fonctions de MAPKBP1 (orientation des mitoses et voie JNK) et de mieux définir les mécanismes patho-physiologiques associées aux mutations de *MAPKBP1* dans la NPH.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #3482 : Syndromes neurologiques douloureux et canalopathie héréditaire liée aux mutations du gène SCN9A

#### Auteurs :

Hayet Sahli (1), Valérie Raclin (2), Jean Pascal LEFAUCHEUR (3), Samar AYACHE (3), Yasmine BABA AMER (4), Alain Créange (1), Benoit Funalot (2), Pascale Fanen (2)

1. Service de Neurologie, GH Henri Mondor, Créteil, France
2. Département de Génétique, GH Henri Mondor, Créteil, France
3. Service de Neurophysiologie clinique, GH Henri Mondor, Créteil, France
4. Département d'histologie, GH Henri Mondor, Créteil, France

**Mots clefs :** canalopathie, SCN9A,

#### Résumé :

Na<sub>v</sub>1.7 est un canal sodique voltage-dépendant (gène *SCN9A*) impliqué dans les syndromes neurologiques douloureux, tels que l'érythromélgie primaire (EP), le syndrome de douleur extrême paroxystique (PEPD), et les neuropathies des petites fibres (NPF). Certaines mutations ont été associées à un gain de fonction du canal Na<sub>v</sub>1.7. Afin d'étudier le spectre clinique des patients atteints de neuropathies sensitives douloureuses associées à des mutations du gène *SCN9A*, de développer la méthode de séquençage et de chercher de nouvelles mutations, nous avons inclus prospectivement les patients atteints de syndromes neurologiques douloureux durant 18 mois. Un examen neurologique détaillé; des tests neurophysiologiques spécifiques des petites fibres et une quantification de la densité des fibres nerveuses intraépidermiques étaient réalisés pour chaque patient. Un séquençage du gène *SCN9A* était réalisé pour tous les patients. Nous avons inclus 58 patients (32 NPF, 9 EP, 4 PEPD) dont 12 avaient des variants de séquence différents dans le gène *SCN9A* (21%). Trois de ces polymorphismes avaient été précédemment décrits comme des mutations responsables d'un gain de fonction de Na<sub>v</sub>1.7. Par analyse qualitative et semi-quantitative *in vivo*, nous avons démontré l'existence d'un épissage alternatif secondaires à deux variants de séquence (c.3734A > G +/- et insGTTT + / +). Nous avons également confirmé par des tests neurophysiologiques, l'existence d'une neuropathie des petites fibres chez des patients présentant un tableau d'EP et de PEPD. Ces syndromes neurologiques douloureux semblent être de parfaits candidats pour l'essai de bloqueurs des canaux sodiques à visée thérapeutique.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #3483 : Etude structure-fonction d'une mutation de NKX2-1 associée au syndrome Cerveau-Poumon-Thyroïde

#### Auteurs :

Elodie Nattes (1), Céline Delestrain (1), Annick Le Floch (2), Brigitte Boissier (2), Stéphanie Simon (1), Ralph Epaud (3), Pascale Fanen (2)

1. INSERM U955, équipe 5, GH Henri Mondor, Créteil, France
2. Département de Génétique, GH Henri Mondor, Créteil, France
3. Service de Pédiatrie Générale, Centre Hospitalier Intercommunal de Créteil, Créteil, France

**Mots clefs :** NKX2-1, facteur de transcription, phénotype variable

#### Résumé :

Les pathologies héréditaires du métabolisme du surfactant représentent 10 à 15% des syndromes respiratoires associées à une pneumopathie interstitielle chez l'enfant. Les pathologies du surfactant liées aux mutations du gène *NKX2-1*, de transmission autosomique dominante ou sporadiques, sont associées à une très grande variabilité phénotypique. En effet, chez l'homme, des mutations de *NKX2-1* ont été rapportées chez des patients présentant une atteinte pulmonaire associée à des symptômes neurologiques et une hypothyroïdie (Syndrome Cerveau-Poumon-Thyroïde) mais plus récemment des atteintes pulmonaires isolées ont été reportées. *NKX2-1* (*NK2 homeobox 1*) également appelé *TTF-1* (*thyroid transcription factor 1*) est exprimé dans la thyroïde, le système nerveux central et le poumon. Dans le poumon, *NKX2-1* est un facteur de transcription essentiel pour la synthèse de la protéine *ABCA-3* et des protéines du surfactant (*SP-A*, *B*, *C* et *D*) codées par les gènes *SFTPA*, *B*, *C* et *D* respectivement.

Nous avons étudié une mutation *de novo*, c.254dup du gène *NKX2-1* (NM\_003317.3), identifiée chez un patient présentant un syndrome Cerveau-Poumon-Thyroïde caractérisé par une détresse respiratoire néonatale, une hypothyroïdie congénitale avec une thyroïde ectopique et un retard du développement moteur associé à une ataxie motrice.

La mutation a été introduite par mutagenèse dirigée dans le vecteur contenant l'ADNc sauvage de *NKX2-1*. Trois lignées cellulaires issues de chaque tissu atteint (A549, N2a et N-thy) ont été transfectées par les plasmides *NKX2-1* sauvage ou muté. Les protéines obtenues ont été analysées par *Western blot* et la localisation subcellulaire a été déterminée par microscopie confocale. L'étude de la régulation transcriptionnelle sur les promoteurs de *SFTPB*, *SFTPC*, *RET* et *thyroglobuline* a été faite en utilisant les plasmides rapporteurs luciférase de *SFTPB*, *SFTPC*, *RET* ou *thyroglobuline* co-transfectés avec le vecteur de *NKX2-1* vide, sauvage ou muté.

La mutation c.254dup de *NKX2-1* entraîne un décalage du cadre de lecture à partir de la tyrosine en position 86 conduisant à une perte de l'homéodomaine et produisant une protéine plus longue (408 acides aminés au lieu de 371). De façon inattendue, cette protéine anormale est localisée dans le noyau malgré la perte de son signal de localisation nucléaire mais avec un pattern intranucléaire très différent de celui de la protéine sauvage. Du point de vue fonctionnel, bien que nucléaire elle n'active pas les promoteurs de *SFTPB*, *SFTPC* et *RET* (niveau d'activation luciférase 4%, 14% et 28% respectivement par rapport à la protéine sauvage).

En conclusion, nos résultats d'étude fonctionnelle pour le mutant c.254dup sont concordants avec le phénotype du patient. Nous étudions actuellement des mutations associées à un phénotype pulmonaire isolé afin d'élucider les mécanismes moléculaires conduisant aux phénotypes très différents associées aux mutations de ce gène.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #3484 : Stratégie d'analyse des mutations d'épissage du gène *SFTPC* : exemple de la mutation p.Gln145His

#### Auteurs :

Céline Delestrain (1), Stéphanie Simon (1), Médina Rachel (2), Abdel Aissat (1), Bruno Costes (1), Ralph Epaud (3), Pascale Fanen (2)

1. INSERM U955, équipe 5, GH Henri Mondor, Créteil, France
2. Département de Génétique, GH Henri Mondor, Créteil, France
3. Service de Pédiatrie Générale, Centre Hospitalier Intercommunal de Créteil, Créteil, France

**Mots clefs** : *SFTPC*, épissage, variabilité phénotypique

#### Résumé :

Les pathologies du surfactant liées aux mutations du gène *SFTPC*, de transmission autosomique dominante ou sporadiques, sont associées à une très grande variabilité phénotypique. Elles peuvent être responsables de pathologies interstitielles diffuses du nourrisson, de l'enfant et de l'adulte dans la majorité des cas mais sont également responsables de syndrome de détresse respiratoire aiguë chez le nouveau-né. Pour certaines mutations du gène *SFTPC*, le génotype ne permet pas de prédire ou d'expliquer le phénotype, dès lors l'hypothèse d'un défaut d'épissage de l'ARN prémessager a été évoquée pour expliquer cette variabilité phénotypique et une stratégie d'analyse fonctionnelle de tous les exons du gène *SFTPC* entreprise. A titre d'exemple, une mutation localisée dans le domaine BRICHOS de la pro-protéine SP-C (proSP-C) associée à un phénotype néonatal très sévère a été étudiée.

Par une combinaison d'outils *in silico* et *in vitro*, nous avons évalué l'effet de la mutation c.435 G>C, localisée dans l'exon 4, sur l'épissage de l'ARN pré-messager. L'analyse *in silico* de cette mutation, c.435G>C (p.Gln145His) localisée au niveau du site donneur d'épissage, révèle qu'elle diminue fortement le score de ce site. Après expression hétérologue de vecteurs minigènes contenant l'exon 4 sauvage du gène *SFTPC* et la mutation c.435G>C, nous avons extraits les ARNm de cellules épithéliales alvéolaires de type II (A549). Les transcrits obtenus sont séparés par électrophorèse capillaire en fonction de leur taille. Ces expériences ont montré que la mutation entraîne un saut complet de l'exon 4 quand le minigène muté est transfecté seul et a un effet dominant négatif sur l'épissage de l'intron sauvage lorsqu'il est co-transfecté avec le minigène sauvage. Ces résultats indiquent que la mutation c.435G>C (p.Gln145His), décrite comme une mutation faux sens, est en réalité une mutation d'épissage du gène *SFTPC*. L'absence d'épissage alternatif et le saut complet de l'exon 4 observé, confirment le caractère très délétère de cette mutation et la sévérité du phénotype.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #3487 : La neuropathie héréditaire sensitive et autonome de type IV : à propos de 2 cas

#### Auteurs :

Wiem Manoubi (1), Amira Mili (2), Améni Gdissa (3), Ezzeddine Achouri (4), Jihene Bouguila (5), Samir Haddad (6), Najla Souayah (7), Sihem Sassi (3), Ahlem Msakni (3), Rihab Ben Sghaier (3), Ali Saad (3), Moez Gribaa (3)

1. Laboratoire de Cytogénétique, de Génétique Moléculaire et de la Biologie de la Reproduction Humaines,, CHU Farhat HACHED, Sousse, Tunisie, Sousse, Tunisie
2. Laboratoire de Cytogénétique, de Génétique Moléculaire et de la Biologie de la Reproduction Humaines, , CHU Farhat HACHED, Sousse, Tunisie, Sousse, Tunisie
3. Laboratoire de Cytogénétique, de Génétique Moléculaire et de la Biologie de la Reproduction Humaines,, CHU Farhat HACHED, Sousse, Tunisie, Sousse, France
4. Service de Pédiatrie, CHU Fattouma Bourguiba, Monastir, Tunisie, Monastir, France
5. Service de Pédiatrie, CHU Farhat Hached, Sousse, Tunisie, Sousse, France
6. Service de Pédiatrie, CHU Fattouma Bourguiba, Monastir – TUNISIE, Monastir, France
7. Service de Pédiatrie, CHU Farhat Hached, Sousse - TUNISIE, Sousse, France

**Mots clefs :** neuropathie héréditaire, retard mental, insensibilité congénitale, HSAN IV, gène NTRK1

#### Résumé :

**Introduction :** La neuropathie sensitive et autonome héréditaire de type 4 (HSAN4) est une maladie caractérisée par une anhidrose, une insensibilité à la douleur, des automutilations et des épisodes de fièvre. Plusieurs centaines de cas ont été publiés. La maladie apparaît dans la petite enfance. Une consanguinité a été rapportée dans 50 % des cas. En général, les premiers signes de la maladie sont des épisodes de fièvre, une hyperpyrexie extrême et des convulsions fébriles récurrentes (dues à l'anhidrose), et des automutilations. La principale manifestation de l'HSAN4 est une absence ou une diminution marquée de la sudation au niveau du tronc et des extrémités supérieures dans 100 % des cas et affectant de manière variable les autres régions du corps.

**Objectif:** Dans ce cadre, nous rapportons une famille tunisienne dont deux enfants sont atteints de HSAN4. Les analyses génétiques indirectes ont montré un profil de transmission en faveur d'une anomalie moléculaire du gène *NTRK1* responsable de la maladie.

**Patients et méthode:** Il s'agit d'une famille tunisienne consanguine. Elle présente deux garçons âgés de 6 et 4 ans avec des crises convulsives récidivantes et d'importantes lésions d'automutilation. Une anhidrose totale, une insensibilité à la douleur et un retard mental avaient alors été mis en évidence. Ils avaient des signes cliniques en faveur de HSAN4. Un génotypage par l'analyse de quatre marqueurs microsatellites polymorphes situés autour du gène *NTRK1*, a permis de dresser l'haplotype de chaque individu et de suivre la transmission de la phase haplotypique liée à la maladie.

**Résultats :** L'étude indirecte par génotypage a révélée la présence d'une phase haplotypique homozygote liée à la maladie chez l'un des frères atteints. Le deuxième frère était décédé 3 mois plus tard dans un tableau de septicémie et d'hyperthermie maligne.

**Discussion et conclusion :** L'évolution différente de la maladie chez ces 2 frères met l'accent sur l'intérêt des mesures préventives et thérapeutiques surtout pendant les 3 premières années de vie, puisque la mortalité, les troubles de comportement et le retard mental diminuent nettement après cet âge. L'intérêt du diagnostic indirect par génotypage est important pour montrer le type de transmission haplotypique chez les malades. Celui-ci devrait être suivi d'un séquençage du gène *NTRK1* à la recherche du type de la variation génique. En attendant l'émergence probable de nouvelles thérapies curatives dans la prochaine décennie, le traitement reste encore symptomatique.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

**#3489 : Identification de nouvelles mutations d'un facteur d'assemblage du Complexe I , TMEM126B, causant des maladies mitochondriales.**

### Auteurs :

Benedetta Ruzzenente (1), Lucas Bianchi (1), Zahra Assouline (2), Giulia Barcia (2), Sylvain Hanein (1), Benoît Funalot (3), Marlène Rio (2), Arnold Munnich (2), Agnès Rötig (1)

1. , Institut Imagine : 24 Boulevard du Montparnasse, 75015 Paris, Paris, France

2. , Service de Génétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, 149 Rue de Sèvres 75015 Paris, Paris, France

3. , Service de Génétique, Hôpital Henri Mondor, 51 Avenue du Maréchal de Lattre de Tassigny, 94010 Créteil, Créteil, France

**Mots clefs :** maladies mitochondriales, Complexe I, OXPHOS

### Résumé :

Mitochondria are the powerhouses of all eukaryotic cells which produce energy in a process called oxidative phosphorylation (OXPHOS). Complex I (CI), the first and the biggest of five multi-protein complexes that compose the mitochondrial OXPHOS system, consists of both mitochondrially and nucleus-encoded subunits. Because of its big size and the dual genetic origin, biogenesis of CI is a complex event that requires a set of not yet completely characterized assembly factors. Mutations in the genes encoding either structural subunits of CI or assembly factors result in isolated CI deficiency, which represents the most common cause of OXPHOS dysfunction.

Using the "MITOME", a gene sequencing array developed by our laboratory, we identified *TMEM126B* as the disease-causing gene in two unrelated patients with isolated CI deficiency. *TMEM126B* is a putative CI assembly factor that is not well characterized. Both patients presented with exercise intolerance, muscle myopathy and hyperlactatemia, but whereas one patient exhibited hyperlactaturia and growth retardation, the other patient developed optic atrophy. Both patients presented isolated CI activity decrease and abnormal assembly. They are compound heterozygous for *TMEM126B* mutations. Patient 1 carried a missense and a stop mutations resulting in p.Gly212Val and p.Gln70\* respectively changes in the protein. Patient 2 presented the same p.Gly212Val as well a p.Asp133Asn. Functional validation and investigation of the role of *TMEM126B* in CI assembly are ongoing in patients and control fibroblast.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #3496 : SOLUTIONS D'ENRICHISSEMENT ET NGS DANS LA CARDIOMYOPATHIE HYPERTROPHIQUE: INTERETS RESPECTIFS DU CLE EN MAIN (SYSTEME TSCA, ILLUMINA) VERSUS SOLUTION MAISON (SYSTEME RAINDROP MAKER, RAINDANCE)

#### Auteurs :

Karine Auribault (1), Christian Vasseur (2), Benoit Funalot (3), Xavier Jeunemaitre (1), Juliette Albuissou (1)

1. Département de Génétique, Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris, France
2. Département de Génétique, Hôpital Henri Mondor, Paris, France
3. Département de Génétique, Hôpital Henri Mondor, Paris, France

**Mots clefs :** CMH Séquençage haut débit, panel de gènes, enrichissement

#### Résumé :

Les cardiomyopathies hypertrophiques (CMH) sont des maladies cardiaques héréditaires relativement fréquentes (prévalence 1/500), caractérisées par un risque variable d'arythmie et d'insuffisance cardiaque. Plus de 25 gènes de CMH sont référencés dans OMIM en 2015, dont une majorité codent des protéines du sarcomère des cardiomyocytes. Diverses solutions commerciales d'enrichissement sont disponibles, conférant des avantages et des inconvénients très divers, et des rendements diagnostiques variables : de 50% pour les 4 gènes de protéines sarcomériques majoritaires (kit Multiplicom: MYH7, MYBPC3, TNNI3, TNNT2), à plus de 95%, pour 40 gènes de cardiopathies diverses (kit Trusight, Illumina). Nous avons sélectionné 11 gènes de cardiopathies hypertrophiques (ACTC1, CSRP3, GLA, MYBPC3, MYH7, MYL2, MYL3, TNNI3, TNNT2, TPM1, TTR) correspondant à un rendement diagnostique théorique minimum de 80%. Nous avons choisi de comparer, à partir de designs strictement équivalents, une solution commerciale clé en main et une solution impliquant une mise au point par PCR en émulsion. Un kit d'enrichissement Truseq Custom Amplicon (TSCA, Illumina), et un kit basé sur la technologie Raindance, faiblement documentée pour l'utilisation en NGS, ont été testés. Les deux approches ont en commun un faible coût pour les étapes de design, et sont basées sur une stratégie de type amplicon (après extension-ligation pour TSCA et émulsion pour Raindance). Elles divergent cependant sur la souplesse d'utilisation, et la robustesse des résultats en termes de qualité et de composition des bibliothèques obtenues : le système TSCA correspond à un design définitif, et un protocole automatisable, utilisable à grande échelle, et non modulable. Le système Raindance est très souple d'utilisation, évolutif, et modulable, pour un débit plus modéré. La comparaison de ces deux solutions a été réalisée à partir de 48 échantillons d'ADN de 14 témoins et 36 patients de génotype inconnu. L'efficacité de chaque système, caractérisée notamment par les paramètres de clustering, les scores de qualité de runs, les taux de couverture sont présentés, ainsi que leurs coûts réels et additionnels en main d'œuvre et réactifs. Les limites de chaque technique, ainsi que les possibles discordances génotypiques, sont développées. Les résultats de cette étude mettent en lumière la nécessité d'adapter finement le choix d'une solution d'enrichissement à chaque type de projet de séquençage ciblé. Trois paramètres majeurs ont été dégagés par cette étude comparative : (i) le débit d'utilisation, lié à la fréquence de la maladie et à l'offre diagnostique existante, (ii) l'évolution des connaissances génétiques, spécifique de la pathologie, impliquant une mise à jour des contenus des panels, et (iii) les caractéristiques de chaque laboratoire diagnostique, en terme d'infrastructure, de personnel technique et informatique. Ces trois paramètres sont discutés dans le contexte particulier de cette étude.

### #3497 : Description du spectre mutationnel du gène *KMT2D* dans le syndrome Kabuki

#### Auteurs :

Vincent Gatinois (1), Mouna Barat-Houari (2), Guillaume Sarrabay (2), Aurélie Fabre (2), Elodie Sanchez (3), David Genevieve (4), Isabelle Touitou (2)

1. Laboratoire de Génétique Chromosomique, Hôpital A. de Villeneuve - CHRU de Montpellier, Montpellier, France
2. Laboratoire de génétique des maladies rares et autoinflammatoires, Hôpital A. de Villeneuve - CHRU de Montpellier, Montpellier, France
3. Unité INSERM U1183, Hôpital St Eloi - CHRU de Montpellier, Montpellier, France
4. Service de Génétique Médicale, Hôpital A. de Villeneuve - CHRU de Montpellier, Montpellier, France

**Mots clefs :** Kabuki, *KMT2D*, mutation, domaine SET

#### Résumé :

Le syndrome Kabuki est une maladie génétique rare, associant un déficit intellectuel, un syndrome polymalformatif et des variations morphologiques mineures spécifiques du visage et des mains permettant le diagnostic. Sa prévalence est d'environ 1 / 32 000 naissances et son mode de transmission est principalement autosomique dominant. Environ 2/3 des patients sont porteurs d'une anomalie du gène *KMT2D*. Dans la grande majorité des cas, il s'agit d'une mutation ponctuelle délétère mais des anomalies de grande taille ont été décrites. En proposant le diagnostic génétique par séquençage Sanger du gène *KMT2D* à l'ensemble du territoire national, nous avons colligé une cohorte de 260 familles pour lesquels une expertise clinique a préalablement validé le phénotype du syndrome Kabuki chez les cas index. Les variations de séquence mises en évidence ont chacune été interprétées en 5 classes de pathogénicité selon les éléments de la littérature, les fréquences observées dans les bases de données, la nature de la variation, la ségrégation familiale et les prédictions informatiques. Nous avons identifié plus de 200 mutations différentes potentiellement pathologiques, dont 50 n'ont encore jamais été décrites dans la littérature, ni dans les bases de donnée en libre d'accès. L'analyse de ces données révèle que la grande majorité est des mutations tronquantes. Les mutations faux-sens, quant à elles, ne sont pas réparties au hasard sur le gène et présentent une forte densité dans les exons 50 à 53 codant pour le domaine SET, principal domaine fonctionnel et hautement conservé de la protéine *KMT2D*. La majorité des mutations sont *de novo* chez le cas index. Quelques rares cas montrent une transmission dominante avec un parent porteur de la mutation causale et présentant tout ou partie des signes cliniques du cas index. Enfin, si la grande majorité des mutations répertoriées est privée, quelques unes sont récurrentes et retrouvées chez des patients non apparentés, ce qui révèle la présence de points chauds mutationnels sur le gène *KMT2D*. Cette étude d'une cohorte de patients atteints par le syndrome Kabuki a donc permis de recueillir et d'interpréter un grand nombre de nouvelles mutations, donnant ainsi aux patients la possibilité d'une prise en charge adéquate. Ce travail en alimentant les banques de données libres d'accès, aidera la communauté médicale pour l'interprétation des variations du gène *KMT2D*.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #3498 : VRK2: a Novel Gene Causing Isolated Autosomal Dominant Bilateral Congenital Optic Nerve Hypoplasia

#### Auteurs :

Eva PIPIRAS (1), Brigitte Benzacken (1), Pierre BITOUN (2)

1. Embryo-Cytogénétique et Biologie de la Reproduction, Hôpital Jean Verdier, CHU Paris Nord, BONDY, France  
2. Génétique Clinique , SIDVA 91, Juvisy s/o, France

**Mots clefs :** hypoplasie du nerf optique, vision basse,

#### Résumé :

##### **Purpose:**

Optic nerve hypoplasia (ONH) is a rare congenital ocular malformation causing severe visual handicap. Children are often blind at birth and usually progress to severe visual incapacity in the first 2 years. ONH is often syndromal ( septo optic dysplasia or de Morsier syndrome) and associated with MRI anomalies of the pituitary region with endocrine hormonal deficiencies. The genetic origin of isolated ONH is unknown and our purpose is to identify possible genetic causes of isolated ONH.

##### **Material and Methods:**

5 probands with isolated ONH were tested using SNP microarray CGH analysis after informed consent. The Illumina SNP array was used with Human OmniExpress24 with 730K probes. The Illumina Genomstudio 2010.3, and CNV partition 3.1.6 software were used with a mean resolution of 100kb and a call rate of **0,997**. Database of Genomic Variants, NCBI Build 37 (hg19) was used as reference map.

##### **Results**

A single subject was found to show a 410,4 kb deletion of the 2p26.1 (58,012,833-58,423,312)region encompassing the VRK2 gene and the promoter and first exons of the FANCL gene. The mother was not carrying the deletion and the father was not available for sampling. FISH probe RP11-501L9 (BlueFISH) was used to confirm the deletion of the 2p26.1 region. Two other duplications: the first in 16p13.11-p12.3 (inherited from mother) of 3.12 Mb including 27 genes of which 3 OMIM disease-associated: NDE1, MYH11,ABCC6. and a 106kb 22q12.3 duplication including 4 genes , 2 OMIM disease-associated APOL1 and MYH9.

The VRK2 (Vaccinia related Kinase ) has previously been associated with several neuro-psychiatric illnesses such as schizophrenia, epilepsy as well as in a glaucoma GWAS . According to Liu T et al 2012, VRK2 and FBXO11 may interact with tumor protein p53 to regulate mitochondrial membrane permeability, mitochondrial membrane organization, and apoptosis. This kinase may thus play a role during the embryologic formation of the optic nerve. The FANCL deletion warrants more intense hematological surveillance of the proband. The other duplication CNV seem to be coincidental and not related to the pathology, the 16p.13.1 because it is maternally inherited and the second one seems to involve genes with little relation to the optic nerve pathology

##### **Conclusion:**

We identified VRK2 as a putative autosomal dominant gene candidate involved in optic nerve hypoplasia which is deleted in a proband in one of 5 families studied with ONH using SNP microarray.

**#3499 : ISOLATED OPTIC NERVE HYPOPLASIA IN 5 TRIOS –CLINICAL AND EXOME STUDY**

**Auteurs :**

Pierre BITOUN (1), Anne Boland Auge (2), Delphine Bacq Daian (3), Eva PIPIRAS (4), Brigitte Benzacken (4), Austin Alexander (5), Suzanne Kuzbari (6), Jean François Deleuze (7)

1. Génétique Clinique , SIDVA 91, Juvisy s/o, France
2. Génomique, Centre National de Génotypage, Evry, France
3. Bioinformatique, Centre National de Génotypage, Evry, France
4. Embryo-Cytogénétique et Biologie de la Reproduction, Hôpital Jean Verdier, CHU Paris Nord, BONDY, France
5. Bioinformatique, Gene US, Pearlgén, Austin, Tx, Etats-Unis
6. Banque d'ADN, Hôpital Robert Dbré, Paris , France
7. Direction, Centre National de Génotypage, Evry, France

**Mots clefs :** hypoplasie du nerf optique, vision basse, Exome NGS

**Résumé :**

**Purpose**

Optic nerve hypoplasia (ONH) is a rare congenital ocular malformation causing severe visual handicap. Children are often blind at birth and usually progress to severe visual incapacity in the first 2 years. ONH is often syndromic ( septo optic dyslasia or de Morsier syndrome) and associated with MRI anomalies of the pituitary region with endocrine hormonal deficiencies The genetic origin of ONH is unknown and our purpose is to identify possible genetic causes of isolated ONH.

**Material and Methods:**

5 Proband (2 females and 3 males) with normal MRI and their parents were enrolled for a genetic study after informed consent for array CGH and NGS exome analysis. They had a complete pediatric, dysmorphic and ophthalmologic examination as well as complete pituitary endocrine work up. All patients had snp array CGH testing. Male patients were genotyped for HESX. DNA was extracted from lymphoblastoid cell lines or from whole blood using standard procedures and submitted to stringent quality control. DNA was sequenced at a mean of 30X in greater than 92% of samples using an Illumina platform. Bam file coherence and duplicate elimination was performed using Sam Tools and Picard Tools, QC was performed using house tools as well as Bedtools. Variants calling was performed using GATK. Annotation was performed using snpEff and snpSift. Variant Filters were applied under a de novo dominant hypothesis, and absence in 1000k genomes dbsnp and Exac databases using the Gene US from Pearlgén.

**Results:**

All patients had normal intelligence and severe visual handicap with distance VA around 20/200 , 3 had learning difficulties, one female with severe dyspraxia, and one male had multiple endocrine deficiencies despite normal MRI including micropenis treated with HCG, adrenal insufficiency treated with supplemental cortisone. 3 patients had sleeping disorders successfully treated with melatonin.

No HESX mutations were identified. A single 2p16.1 duplication was identified on arrayCGH and is being verified. All parents were healthy and 3 fathers of male patients were not available. Several candidate genes have been identified on NGS exome analysis that will need further validation.

**Conclusion:**

A 2p16.1 duplication on array CGH was identified in a male patient. Complete Exome NGS analysis results will be presented.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #3501 : Syndrome de Sotos et exploration par NGS des anomalies constitutionnelles des gènes SETD2 et DNMT3A impliqués dans la marque chromatiniennne H3K36me3

#### Auteurs :

Camille Tlemsani (1), Armelle Luscan (2), Nicolas Leulliot (3), Eric Bieth (4), Alexandra Afenjar (5), Geneviève Baujat (6), Martine Doco-Fenzy (7), Alice Goldenberg (8), Didier Lacombe (9), Laetitia Lambert (10), Sylvie Odent (11), Jérôme Pasche (12), Sabine Sigaudy (13), Ingrid Laurendeau (1), Magali Chin (2), Dominique Vidaud (2), Valérie Cormier-Daire (14), Michel Vidaud (2), Eric Pasmant (2), Lydie Burglen (15)

1. EA7331, Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, Faculté de Pharmacie, Paris, France
2. EA7331 et Service de biochimie et génétique moléculaire, Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, Faculté de Pharmacie et hôpital Cochin, AP-HP, Paris, France
3. Laboratoire de Cristallographie et RMN Biologiques-CNRS UMR-8015, Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, Faculté de Pharmacie, Paris, France
4. Service de génétique, Hôpital Purpan, Toulouse, France
5. Centre de référence des anomalies du développement et syndromes malformatifs, Département de Génétique, Hôpital Trousseau, AP-HP, Paris, France
6. INSERM UMR\_1163, Département de Génétique, Université Paris Descartes Sorbonne Paris Cité, Institut Imagine, Hôpital Necker-Enfants Malades, AP-HP, Paris, France
7. Service de génétique, CHRU Hôpital Maison Blanche, Reims, France
8. Service de génétique, CHU Charles Nicolle, Rouen, France
9. Service de génétique, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France
10. Service de génétique, CHU de Nancy, Nancy, France
11. Service de génétique, CHU de Rennes, Rennes, France
12. Service de Pédiatrie, Centre Hospitalier de Polynésie française, Papeete, Tahiti, France
13. Service de génétique, CHU de Marseille - Hôpital de la Timone, Marseille, France
14. INSERM UMR\_1163 et Département de génétique, Institut Imagine, Université Paris Descartes Sorbonne Paris Cité; Hôpital Necker-Enfants Malades, AP-HP, Paris, France
15. INSERM UMR\_1141 et Centre de référence des anomalies du développement et syndromes malformatifs, Département de Génétique, Hôpital Trousseau, AP-HP, Paris, France

**Mots clefs :** Croissance excessive, syndrome de Sotos, NSD1, SETD2, DNMT3A, H3K36

#### Résumé :

Le syndrome de Sotos est un gigantisme caractérisé par une croissance excessive durant l'enfance, une macrocéphalie, une dysmorphie faciale caractéristique et des difficultés d'apprentissage. Des mutations ponctuelles et des délétions du gène *NSD1* (*Nuclear receptor binding SET-Domain containing gene 1*) sont responsables d'environ 80% des cas de syndrome de Sotos. *NSD1* code une histone-méthyltransférase impliquée dans la diméthylation de la lysine 36 de l'histone H3 (H3K36), participant ainsi à la régulation épigénétique de l'état de compaction de la chromatine. Récemment, notre équipe a mis en évidence des mutations constitutionnelles de *SETD2* (*SET domain containing 2*), une méthyltransférase tri-méthylant H3K36, chez deux patients atteints d'un syndrome de « Sotos-like » (dysmorphie peu marquée). Dans le même temps, des altérations constitutionnelles de *DNMT3A* (*DNA (cytosine-5)-methyltransferase 3A*) ont été montrées à l'origine d'un syndrome de croissance avancée avec dysmorphie faciale. *DNMT3A* code une ADN méthyltransférase reconnaissant la marque H3K36me3. Ces observations suggèrent qu'un mécanisme commun (la perturbation de l'apposition ou de la lecture de la marque chromatiniennne H3K36me3) est à l'origine de ce syndrome de croissance excessive.

Dans le but de confirmer ces résultats une approche de NGS ciblé des gènes *SETD2* et *DNMT3A* a été menée sur une large cohorte française de 210 patients atteints d'un syndrome de Sotos ou « Sotos-like » sans anomalie moléculaire de *NSD1*. Les données phénotypiques ont été collectées à l'aide d'une fiche de renseignements cliniques standardisée.

Un variant *de novo* hétérozygote avec délétion de 2 pb de *SETD2* a été identifié chez un patient. Cinq variants hétérozygotes de *DNMT3A* ont été identifiés chez six patients : deux non-sens et trois faux-sens *de novo*. Ces trois variants faux-sens de *DNMT3A* affectaient des domaines fonctionnels. Le variant p.Asp529Asn était situé dans le domaine d'interaction protéine-protéine ADD et les deux autres variants faux-sens étaient situés dans le domaine ADN méthyltransférase (p.Val778Gly et p.Arg882Cys). Tous les patients présentaient une avance staturale ( $\geq +2DS$ ), une macrocéphalie ( $\geq +2DS$ ), des difficultés d'apprentissage et une dysmorphie variable.

Ces résultats montrent l'intérêt de proposer le criblage par NGS des gènes *SETD2*, *DNMT3A* et *NSD1* chez les patients atteints d'un syndrome de Sotos ou « *Sotos-like* ». Par ailleurs, il est intéressant de constater que des altérations somatiques des gènes *NSD1*, *SETD2* et *DNMT3A* ont également été décrites dans plusieurs types de tumeurs malignes humaines. La mutation constitutionnelle faux-sens *de novo* p.Arg882Cys retrouvée chez deux patients de la cohorte est la mutation somatique de *DNMT3A* la plus fréquemment retrouvée dans les leucémies aiguës.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #3503 : Corrélations phénotype-génotype dans la neurofibromatose de type 1: l'expérience française

#### Auteurs :

Eric Pasmant (1), Armelle Luscan (1), Audrey Sabbagh (2), Magali Soares (3), Ingrid Laurendeau (4), Philippe Goussard (3), Chrystel Leroy (3), Joëlle Cohen (3), Audrey Briand-Suleau (3), Salah Ferkal (5), Jennifer Varin (4), Laurence Valeyrie-Allanore (6), Emilie Sbidian (6), Michel Vidaud (1), Béatrice Parfait (1), Pierre Wolkenstein (6), Dominique Vidaud (1)

1. EA7331 et Service de biochimie et génétique moléculaire, Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, Faculté de Pharmacie et hôpital Cochin, AP-HP, Paris, France
2. UMR216 IRD, Université Paris Descartes Sorbonne Paris Cité, Faculté de Pharmacie, Paris, France
3. Service de Biochimie et Génétique Moléculaire, Hôpital Cochin, AP-HP, Paris, France
4. EA7331, Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, Faculté de Pharmacie, Paris, France
5. INSERM, Centre d'Investigation Clinique 006, AP-HP, Groupe hospitalier Henri Mondor-Albert Chenevier, Créteil, France
6. Département de Dermatologie, Centre de référence des neurofibromatoses et EA 4393 LIC, Hôpital Henri-Mondor, AP-HP et Université Paris Est Créteil (UPEC), Créteil, France

**Mots clefs :** NF1, SPRED1, syndrome de Legius, NGS, corrélations génotype-phénotype, SUZ12, PRC2, MPNST

#### Résumé :

La neurofibromatose de type 1 (NF1) est l'une des maladies héréditaires autosomiques dominantes parmi les plus fréquentes chez l'homme. Ce syndrome de prédisposition tumorale résulte de mutations constitutionnelles hétérozygotes de type perte de fonction du gène *NF1* codant la neurofibromine. Une des caractéristiques cliniques majeures de la NF1 est la présence de tumeurs bénignes des gaines nerveuses périphériques dénommées neurofibromes. Les neurofibromes plexiformes peuvent se transformer en tumeurs malignes des gaines nerveuses (MPNST), première cause de mortalité des patients. Comme de nombreuses maladies mendéliennes à pénétrance complète, la NF1 se caractérise par une importante expressivité variable. Une hétérogénéité génétique a par ailleurs été décrite. Des mutations du gène *SPRED1* causent le syndrome de Legius, phénotypie moins sévère que la NF1, associant taches café-au-lait, lentigines, difficultés d'apprentissage et macrocéphalie.

La grande taille du gène *NF1* et l'absence de point chaud de mutation rendent complexe son analyse moléculaire. Nous avons développé une approche de séquençage des gènes *NF1* et *SPRED1* par NGS ciblé (protocole Ampliseq, PGM, Thermofisher). L'analyse de 565 patients de la cohorte NF-France a montré un taux de détection des mutations de 97% (546/565 patients) avec la possibilité de la mise en évidence de mutations mosaïques faiblement représentées. L'analyse des corrélations génotype-phénotype au sein cette cohorte montre que les patients porteurs de mutations intragéniques de *NF1* de type faux-sens ont un phénotype moins sévère que les patients porteurs de mutations « nulles ». Nous confirmons en particulier que les mutations faux-sens impliquant le codon Arg1809 et la délétion en phase p.Met992del sont associées à un phénotype caractérisé par l'absence de tumeur des gaines nerveuses, rappelant le syndrome de Legius. Chez les patients porteurs de grandes délétions récurrentes (1,2 Mb) incluant *NF1* et 13 gènes adjacents, un phénotype plus sévère a été décrit. Nous avons récemment montré que la co-délétion des gènes *NF1* et *SUZ12* était responsable de l'incidence accrue de MPNST observée chez ces patients délétés (5 à 10 % des patients NF1). La description de ces corrélations génotype-phénotype est un élément important pour le conseil génétique.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #3507 : Mutations faux sens du gène WDR73 chez deux familles Tunisiennes atteintes d'un syndrome de Galloway-Mowat

#### Auteurs :

Mariam El Younsi (1), Khaoula Khachnaoui (2), Hana Safraou (2), Imène Boujelbène (2), Leila Leila Dardour, (2), Ahlem Achour (2), Sebai Molka (2), Faouzi Maazoul (2), Médiha Trabelsi (2), Inès Ouertani (2), Lilia Kraoua (2), Rym Meddeb (2), Taher Gargah (3), ridha M'rad (2)

1. Laboratoire de génétique .faculté de médecine de Tunis, , Tunis, Tunisie
2. Service des maladies congénitales et héréditaires., EPS Charles Nicolle Tunis, Tunis, Tunisie
3. Service de néphropédiatrie, EPS Charles Nicolle Tunis, Tunis, Tunisie

**Mots clefs :** Génétique Clinique, Malformation Cérébrale, Syndrome Néphrotique, Génétique Moléculaire

#### Résumé :

Les anomalies du développement cérébral sont souvent associées avec des retards importants du développement psychomoteurs. La grande hétérogénéité génétique et clinique rend la stratégie d'aborder ces entités sur le plan diagnostique difficile. L'association à des signes extra neurologiques peuvent être d'un grand apport pour orienter le diagnostic.

Le but de ce travail est l'analyse de deux familles tunisiennes présentant des signes cliniques de malformation cérébrales, associés à un retard du développement psychomoteurs et un syndrome néphrotique. Cette association est évocatrice du syndrome de Galloway-Mowat.

#### **METHODES:**

Séquençage Directe par Méthode de Sanger du gène WDR73, muté au cours du syndrome de Galloway-Mowat chez 4 individus, un premier cas index seul et un second cas index et ses deux parents

#### **RESULTATS:**

La comparaison ces signes cliniques de nos patients montre la constance des anomalies cérébrales notamment l'hypoplasie cérébelleuse et l'absence d'anomalie de la gyration. La microcéphalie est souvent secondaire. Les convulsions ne sont pas constantes. Nos patients avaient cliniquement un syndrome néphrotique corticorésistant avec des signes de Hyalinose segmentaire et focale a la biopsie rénale.

Nous avons mis en évidence deux mutations non sens différentes l'une au niveau de l'exon 5 et l'autre au niveau de l'exon 7 chez chacun des cas index. Ces mutations testées par les logiciels Sift et Poly Phen semblent hautement pathogènes. Elles sont absentes sur un échantillon de 30 individus normaux. Les parents du cas index dont les 'ADN étaient disponibles portaient la mutation à l'état hétérozygote. Le nucléotide touché par ces mutations est hautement conservé au cours de l'évolution.

#### **CONCLUSIONS:**

Ces résultats confirment l'effet pleiotrope des mutations du gène WDR73. Ils confirment son rôle fonctionnel aussi bien dans le développement cérébral que du rein. Elles mettent l'accent sur l'importance de l'examen clinique pour orienter le diagnostic moléculaire d'une génopathie et par conséquent sa prévention par le conseil génétique et le diagnostic prénatal quand il est indiqué

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

**#3508 : Analyse moléculaire d'une cohorte de 37 cas de syndrome néphrotique corticorésistant.**

### **Auteurs :**

Médiha Trabelsi (1), Hana Saфраou (1), Khaoula Khachnaoui (1), Leila Leila Dardour, (1), Imène Boujelbène (1), Faouzi Maazoul (1), Taher Gargah (2), ridha M'rad (1)

1. Service des maladies congénitales et héréditaires., EPS Charles Nicolle Tunis, Tunis, Tunisie
2. Service de néphropédiatrie, EPS Charles Nicolle Tunis, Tunis, Tunisie

**Mots clefs :** syndrome néphrotique, biologie moléculaire, podocine, néphrine

### **Résumé :**

Le syndrome néphrotique est défini par l'existence d'une protéinurie abondante, d'une hypo protidémie, une hyperlipidémie et d'un syndrome œdémateux. Il peut être cortico sensible ou corticorésistant. Sa survenue au cours des 3 premiers mois de vie et ou chez plusieurs membres d'une famille suggère son origine génétique .Les mutations au niveau des gènes NPHS1 et NPHS2 sont parmi les causes les plus fréquentes dans la littérature ; de survenu d'un syndrome néphrotique à début précoce, familial et cortico résistant.

Le but de ce travail est l'évaluation de la fréquence des mutations des gènes NPHS1 et NPHS2 dans une cohorte de patients tunisiens ayant un SNCR.

### **Méthodes:**

Sequençage directe par méthode de Sanger des différents exons des gènes NPHS1 et NPHS2 chez les différents membres de 37 familles de syndrome néphrotique Notre cohorte comprend 7 familles de syndrome néphrotique congénital et of congénital NS, and 30 cas de SNCR à début infantile.

### **Résultats:**

Un total de 6 mutations homozygotes différentes ont été retrouvées au niveau du gène NPHS1 et 3 mutations homozygotes au niveau de NPHS2 gène

### **Conclusions:**

Nos résultats montrent une prévalence élevée des mutations de NPHS1 dans les formes congénitales 85% et 16% sur l'ensemble des cas. NPHS2 est impliqué dans 10% des formes de l'enfant dans notre échantillon. Un screening de tous les gènes impliqués dans le syndrome néphrotique s'impose dans ce dernier cas.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #3511 : Identification d'une nouvelle mutation de l'APOB dans l'hypercholestérolémie familiale

#### Auteurs :

Sandy EL BITAR (1), Youmna Ghaleb (1), Petra EL KHOURY (2), Jean-Pierre Rabès (3), for ADH French Research Network (4), Catherine Boileau (5), Mathilde Varret (6), Marianne Abifadel (7)

1. LVTS INSERM U1148, Hôpital Bichat-Claude Bernard, Paris, France
2. Laboratoire de Biochimie et Thérapies Moléculaires, Faculté de Pharmacie et Pôle Technologie Santé, Université Saint-Joseph, Beyrouth, Liban
3. Laboratoire de Biochimie et de Génétique Moléculaire, hôpital Ambroise-Paré, Boulogne Billancourt, France
4. laboratoire de Biochimie et de Génétique Moléculaire, hôpital Ambroise-Paré, boulogne Billancourt, France
5. LVTS INSERM U1148, Hôpital Bichat-Claude Bernard, paris, France
6. IVTS INSERM U1148, hôpital Bichat-Claude Bernard, paris, France
7. Laboratoire de Biochimie et Thérapies Moléculaires, faculté de Pharmacie et Pôle Technologie Santé, Université Saint-Joseph, Beyrouth, Liban

**Mots clefs :** Autosomal dominant hypercholesterolemia (ADH), APOB, LDL-C, Exome sequencing

#### Résumé :

**Introduction:** Autosomal dominant hypercholesterolemia (ADH) is a heterogeneous genetic disorder characterized by an increase of LDL cholesterol (LDL-C) levels in plasma, giving rise to tendon and skin xanthomas, arcus cornea, and vascular deposits, leading to progressive and premature atherosclerosis, coronary heart disease (CHD), and death. The 3 genes known to be implicated in the disease are: *LDLR*, the gene encoding the low-density lipoprotein receptor; *APOB*, which encodes its ligand the apolipoprotein b; and *PCSK9* (Proprotein convertase subtilisin kexin 9) which encodes a protein that plays a role in the degradation of the LDL receptor. However many patients suffering from ADH don't carry a mutation in neither one of those 3 genes. Thus other genes are still to be identified.

The aim of our study is to investigate the genetic causes of ADH in families by identifying new mutations in known genes or in new genes in order to better understand the mechanism of this disease.

**Methods:** Through the French Research Network for ADH, families with hypercholesterolemia were recruited from several regions of France. Thirteen families were studied by exome sequencing after the known mutations and genes linked to ADH were excluded. When an interesting variation is found by exome sequencing, Sanger sequencing is then realized to study the segregation of the variation with the disease in the family. The frequency of the variations found by sequencing is estimated using different databases: Exome Variant Server, dbSNP, ExAc browser. The causal effect of each new molecular event was estimated with *in silico* prediction of protein function using the following tools: Polyphen-2, SIFT, MutationTaster.

**Results:** The analysis of the results of the exome sequencing led us to identify in one family a new variation in the *APOB* gene: glutamine at position 50 was substituted for an Arginine. This p.Arg50Gln variant has never been reported before in the databases. It occurs in an ApoB region not usually associated with ADH. Sanger sequencing studies showed that this variant has a good segregation with the disease in the family. The Arginine at position 50 is a moderately conserved amino acid in different species. This variant is found to be disease causing in Mutation Taster database, probably damaging in Polyphen-2 tool, and deleterious in Sift database. Another mutation, p.Arg50Trp, has been reported at the same position in another ADH family (Thomas et al, Mol Genet Genomic Med. 2013).

**Conclusion:** We have identified a new mutation in exon 3 of *APOB* in an ADH family. Genetic analyses suggest that this substitution is functionally important and is likely the cause of hypercholesterolemia in this family. This is the second report of a variation in the same region, which is not usually investigated in ADH. All these data show that this region should be sequenced when the implication of *APOB* is studied in ADH patients.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #3512 : La mutation récurrente d'Aicardi-Goutières p.Ala177Thr du gène RNASEH2B cause une paraplégie spastique

#### Auteurs :

Imen Dorboz (1), Simon Samaan (2), Florence Renaldo (3), Monique Elmaleh (4), Odile Boespflug-Tanguy (5)

1. INSERM U1141, Protect, Hôpital Robert Debré, Paris, France
2. Biologie Moléculaire, Département de Génétique, Hôpital Robert Debré, Paris, France
3. Service de Neuropédiatrie, Hôpital Robert Debré, Paris, France
4. Radiologie Pédiatrique, Hôpital Robert Debré, Paris, France
5. Service de Neuropédiatrie, Hôpital Robert Debré, Paris, France

**Mots clés :** Paraplegie spastique, RNASEH2B, mutation

#### Résumé :

Le syndrome d'Aicardi-Goutières est une leuco-encéphalopathie précoce caractérisée par un arrêt ou perte du développement psychomoteur avec spasticité, microcéphalie progressive et calcifications des noyaux gris centraux. L'augmentation de l'interféron dans le LCR est très évocatrice du diagnostic qui se confirme par une analyse des gènes classiquement impliqués: *TREX1*, *RNASEH2A*, *RNASEH2B*, *RNASEH2C* et *SAMDH1*, *ADAR1* et *IFIH1*. La majorité des mutations impliquent le gène *RNASEH2B* (41%) avec une forte récurrence de la mutation c.529G > A (p.Ala177Thr). Récemment cette mutation a été impliquée dans des formes de paraplégie spastique sans anomalies de la substance blanche ici nous rapportant une nouvelle famille consanguine Marocaine avec deux enfants atteints d'une paraplégie spastique âgées respectivement de 17 et 12 ans. Les deux enfants présentent le même tableau clinique, elles sont nées à terme après une grossesse normale avec un développement normal jusqu'à 18 mois puis régression caractérisée par une perte des acquis moteurs avec une hémiplégié droite, des troubles du comportement avec une insomnie sans fièvre considéré comme un épisode viral. L'analyse du LCR y compris de l'interféron alpha était négative chez l'aînée tout comme le bilan métabolique y compris la recherche d'un déficit mitochondrial. Les capacités de langage ont repris au bout de quelques mois avec persistance d'une fatigabilité et récupération motrice du membre supérieur droit en plusieurs années. Une perte de poids avec diarrhée qui a permis le diagnostic d'intolérance au gluten a été observé chez la plus jeune entre 3 et 4 ans avec une évolution favorable sous simple régime. La marche s'est progressivement améliorée avec persistance d'une paraplégie spastique permettant une marche avec aide stable depuis 5 ans. Une sensibilité des extrémités au froid avec œdème, desquamation et nécrose est apparue chez la sœur aînée. Le scanner n'a pas montré de calcifications et l'IRM a montré un hyper signal periventriculaire non spécifique et modéré de la substance blanche. Une analyse NGS (New Generation Sequencing) a permis de mettre en évidence la mutation c.529G > A (p.Ala177Thr) du gène *RNASEH2B* à l'état homozygote chez les 2 enfants. Cette étude confirme l'extrême hétérogénéité clinique de cette mutation. L'expression de cette mutation sous forme de paraplégie spastique est probablement sous diagnostiquée. L'existence d'un épisode « pseudoviral » et/ou d'une pathologie « auto-immune » permet d'évoquer le diagnostic.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

**#3513 : Les mutations du gène BAG3 responsables de cardiomyopathie dilatée induisent une diminution de la protéostasie cardiomyocytaire et une altération de la fonction cardiaque**

### Auteurs :

Agathe Korniat (1), Sören Westphal (2), Tiphaine Hery (1), Wolfgang Rottbauer (3), Eric Villard (1)

1. ICAN-UMRS 1166, INSERM, Université Pierre et Marie Curie, Paris, France

2. Department of Internal Medicine II, University of Ulm, Ulm, Allemagne

3. Department of Internal Medicine II, University of Ulm, Ulm, France

**Mots clefs :** BAG3, cardiomyopathie dilatée, HSP70, protéostasie

### Résumé :

La cardiomyopathie dilatée (CMD) est une pathologie cardiaque rare dont l'origine est encore mal connue. Elle se caractérise par une dilatation du ventricule gauche associée à une fraction d'éjection réduite. La CMD représente une cause majeure d'insuffisance cardiaque et la première indication de transplantation. Après avoir conduit la première étude d'association génome entier (GWAS) sur des cas sporadiques, nous avons ensuite identifié des mutations hétérozygotes dominantes responsables de formes familiales de CMD dans le gène *BAG3* (*Bcl2-Associated Athanogene 3*). BAG3 est une co-chaperonne cytoprotectrice impliquée dans le maintien de l'homéostasie protéique (ou protéostasie). Ainsi, BAG3 participe à l'élimination de protéines altérées, mal-repliées ou agrégées responsables, si elles s'accumulent, un stress protéotoxique. Un tel stress est particulièrement délétère dans le cadre de cellules post-mitotiques tels que les cardiomyocytes. Les mutations de BAG3 sont localisées dans le domaine BAG interagissant avec la famille des chaperonnes HSP70 (heat shock protein 70). Notre hypothèse est que ces mutations induisent une dysfonction du cardiomyocyte du fait d'une régulation de la protéostasie cellulaire abaissée.

Nous avons étudié les conséquences cellulaires et biochimiques de l'expression de ces mutations dans des modèles cellulaires hétérologues, soit par une surexpression transitoire de protéines chimériques GFP-BAG3, soit dans un modèle de cellules éditées génomiquement pour une de ces mutations. Une étude *in vivo* a également été menée dans le modèle poisson-zèbre. La surexpression des formes mutées de BAG3 dans un modèle de cardiomyocytes de rats néonataux conduit à l'apparition de sarcomères désorganisés, d'agrégats cytoplasmiques, d'une atrophie cellulaire, le tout résultant en une forte létalité. Par GST pull-down et co-immunoprécipitation, nous avons démontré une perte d'interaction entre les mutants BAG3 et HSP70, indiquant des effets structuraux forts de ces mutations, et suggérant une altération potentielle de la protéostasie dépendante de HSP70. Ainsi, grâce à un système rapporteur basé sur une luciférase sensible au choc thermique ou à l'expression de protéines pro-agrégantes, nous avons montré une diminution du contrôle qualité des protéines des cellules exprimant les formes mutantes de BAG3. Enfin, les poisson-zèbres dont les embryons ont été micro-injectés avec les ADNc mutants développent un phénotype d'insuffisance cardiaque.

Nos résultats suggèrent donc fortement que les mutants de BAG3 ne parviennent pas à se lier à HSP70, atténuant ainsi la réponse dépendante d'HSP70 face aux stressprotéotoxiques. De telles altérations fonctionnelles conduisent à une agrégation protéique, une létalité des cardiomyocytes et au développement d'une insuffisance cardiaque dans nos modèles expérimentaux. Notre étude a mis en lumière un nouveau mécanisme physiopathologique responsable de la CMD et plus généralement de l'insuffisance cardiaque.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

#3518 : TUBB4A-related hypomyelinating leukodystrophy: new insights from a series of 12 patients

### Auteurs :

Davide Tonduti (1), Chiara Aiello (2), Florence Renaldo (3), Imen Dorboz (4), Simon Samaan (5), Diana Rodriguez (6), Houda Fettah (4), Monique Elmaleh (7), Roberta Biancheri (8), Sabina Barresi (9), Loredana Boccone (10), Simona Orcesi (11), Anna Pichiecchio (12), Roberta Zangaglia (13), H el ene Maurey (14), Andrea Rossi (1), Odile Boespflug-Tanguy (15), Enrico Bertini (9)

1. Department of Child Neurology, Neurological Institute C. Besta Foundation IRCCS, Milan, Italie
2. Unit of Neuromuscular and Neurodegenerative Disorders, Laboratory of Molecular Medicine, Bambino Gesù Children's Research Hospital, Rome, Italie
3. Service de Neuropédiatrie, Hôpital Robert Debré, , France
4. INSERM U1141, Protect, Hôpital Robert Debré, Paris, France
5. Biologie Moléculaire, Département de Génétique, Hôpital Robert Debré, Paris, France
6. AP-HP, Department of Child Neurology, Hôpital Armand-Trousseau, GHUEP, Paris, France
7. Radiologie Pédiatrique, , Paris, France
8. Dubowitz Neuromuscular Centre, Great Ormond Street Hospital, London, Royaume Uni
9. Unit of Neuromuscular and Neurodegenerative Disorders, Laboratory of Molecular Medicine, Bambino Gesù Children's Research Hospital, Rome, Italie
10. Genetics and Rare Diseases Unit, II Division of Pediatrics, Ospedale Microcitemico, Cagliari, Italie
11. Child Neurology and Psychiatry Unit, C. Mondino National Neurological Institute, Pavia, Italie
12. Department of Neuroradiology, C. Mondino National Neurological Institute, Pavia, Italie
13. Movement Disorders Unit, C. Mondino National Neurological Institute, Pavia, Italie
14. AP-HP, Neurop diatric Département, Reference Center for Leukodystrophies Kremlin Bicêtre Hospital, Paris, France
15. Service de Neuropédiatrie, Hôpital Robert Debré, Paris, France

**Mots clefs :** Leukodystrophy, Hypomyelination, TUBB4A

### Résumé :

**Background:** Hypomyelination with atrophy of the basal ganglia and cerebellum (H-ABC) was first described in 2002. After the recent identification of *TUBB4A* mutation as the genetic basis of the disease, the clinical and neuroimaging phenotype related to *TUBB4A* mutations expanded, ranging from primary dystonia type 4 with normal MRI to severe H-ABC cases.

**Patients and Methods:** The study included patients referred to us for an unclassified hypomyelinating leukodystrophy. We selected patients with deleterious heterozygous *TUBB4A* mutations. Molecular analysis of *TUBB4A* was performed on genomic DNA extracted from peripheral blood.

**Results** The series included 12 patients (5 females and 7 males). Five patients carried the common mutation c.745G>A (p.Asp249Asn), while the remaining carried different mutations. Three new mutations were found in 5 patients. Clinical and neuroimaging observations are described. A clear correlation between the clinical presentation and the genotype seems to be absent in our group of 12 patients

**Conclusions:** *TUBB4A*-mutated patients manifest a comparable clinical and neuroimaging picture but they can differ from each other in terms of rate of disease progression. Extrapyramidal signs can be absent in the first stages of the disease, and a careful evaluation of MRI is fundamental to obtain the final diagnosis. From a therapeutic perspective a trial with L-dopa should be considered in all patients presenting extrapyramidal symptoms

**#3519 : Etude moléculaire du syndrome de Pendred : A propos d'une famille Algerienne.**

**Auteurs :**

SAMIA ABDI (1), Crystel Bonnet (2), Mohamed Makrelouf (3), Akila Zenati (3), Christine Petit (4)

1. faculté de medecine , université saad dahleb blida, Blida, Algérie
2. Labo de recherche , Institut de la vision, Paris, France
3. Labo de recherche , CHU BABAELOUED, Alger, Algérie
4. Labo de recherche , Institut de la vision,institut Pasteur, Paris, France

**Mots clefs :** Surdit e congénitale , hypothyroïdie , gène SLC26A4

**Résumé :**

Le syndrome de Pendred est une surdité syndromique caractérisée par une surdité neurosensorielle bilatérale , un goitre hypothyroïdien et des anomalies osseuses de l'oreille interne.Il represente au moins 5% des surdités cong nitaes.Il est du   une mutation du gène SLC26A4 qui code pour une proteine de 780aa appelée la Pendrine qui a pour role de transporter l'iode dans la cellule thyroïdienne.

La recherche de l'origine génétique de ce syndrome chez 2 membres d'une famille algerienne rentre dans le cadre d'une etude moleculaire des surdités neurosensorielles en Algérie.Elle a permis de retrouver une nouvelle mutation biallélique dans le gène SLC26A4 chez les 2 patientes qui ont cliniquement une surdité neurosensorielle et un goitre diffus hypothyroïdien confirmé par un taux de TSHus très elevé .

**#3524 : Roles des protéines codées par les gènes Usher dans l'oreille et la rétine**

**Auteurs :**

SAMIA ABDI (1), Crystel Bonnet (2), Mohamed Makrelouf (3), Asma Behlouli (3), Kamel Boudjelida (1), Ahmed Cheknene (1), Rachid Bellouni (1), Yahia Rous (1), zahida Merad (1), Akila Zenati (3), Christine Petit (4)

1. faculté de medecine , université saad dahleb blida, Blida, Algérie
2. Labo de recherche , Institut de la vision, Paris, France
3. Labo de recherche , CHU BABAELOUED, Alger, Algérie
4. Labo de recherche , Institut de la vision, institut Pasteur, Paris, France

**Mots clefs :** Gènes Usher , touffe ciliaire , épithélium pigmentaire

**Résumé :**

Le syndrome de Usher est une surdité syndromique caractérisée par une surdité neurosensorielle de severité variable ,une retinite pigmentaire associées parfois de troubles vestibulaires.C'est la cause principale de surdité associée à une cécité .Il est caractérisé par une heterogeneité clinique et genetique . En effet 3 formes cliniques et 10 gènes sont decrits à ce jour comme responsables de ce syndrome.

Ces genes codent pour des proteines presentes et ayant un role au niveau cochleaire et vestibulaire d'une part et d'autre part au niveau de l'epithelium pigmentaire de la retine.

Les mutations au niveau de ces gènes ont des consequences sur l'auditioo et la vision

### #3527 : Le déficit complet en G6PD est-il létal ?

#### Auteurs :

Michel Bahuau (1), Claude Préhu (1), Marie-Odette Balleyguier (2), Valérie Ortonne (1), Pierre Morel (3), Nicolas Daguindau (4), Benoît Funalot (1), Frédéric Galactéros (5)

1. Génétique, Hôpital Henri-Mondor, Créteil, France
2. Biochimie, Hôpital Henri-Mondor, Créteil, France
3. Hématologie, Centre Hospitalier Docteur Schaffner, Lens, France
4. Hématologie, Centre Hospitalier Annecy-Genevois, Pringy, France
5. Unité des Maladies Génétiques du Globule Rouge, Hôpital Henri-Mondor, Créteil, France

**Mots clefs :** G6PD, anémie hémolytique, glycolyse, stress oxydant

#### Résumé :

La Glucose-6-phosphate déshydrogénase (G6PD) est une enzyme clef de la voie des hexoses monophosphate, unique source de NADPH pour les réactions d'oxydoréduction et la régénération du Glutathion réduit dans le globule rouge. Les mutations du gène *G6PD* suivent une hérédité liée au chromosome X. La fréquence élevée du déficit en pays d'endémie palustre est attribuée à un avantage sélectif des hétérozygotes et hémizyotes vis-à-vis de différentes espèces plasmodiales. Dans la forme classique hémizyote (favisme), une crise hémolytique survient au décours de l'ingestion de fèves (*Vicia faba*), ou de la prise d'un traitement avec substance active oxydante (sulfamides, etc.). Dans ces déficits modérés ou moyennement sévères, il n'y a pas d'hémolyse intercurrente. Les femmes déficitaires homozygotes ou hétérozygotes composites ont un risque hémolytique comparable à celui des hémizyotes. Le bassin méditerranéen et l'Afrique subsaharienne sont dominés par deux ou trois mutations fondatrices : V68M(Matera/A-), L323P(A-) (déficit modéré : classe III selon l'OMS) et S188F(Med) (déficit moyennement sévère ; classe II). Les mutations répertoriées sont des faux-sens (> 160) et, dans six cas, une délétion circonscrite respectant la phase codante (-3 ou -6 pb). L'activité enzymatique résultante n'est jamais abolie, même pour les déficits les plus sévères avec hémolyse chronique. Ont été rapportées une délétion exonique de 24 pb (G6PD Nara) hétérozygote, une mutation d'épissage résultant en une délétion exonique de 9 pb (G6PD Zurich) hémizyote et une unique mutation non-sens (Y428X;Georgia) hétérozygote. En effet, il est considéré que l'absence totale d'activité G6PD est létale. Une étude portant sur des femmes hétérozygotes pour un variant de classe I (activité enzymatique < 10%) a montré un excès significatif de cellules avec activité G6PD normale dans les lignées érythroïde, myéloïde et lymphoïde, en faveur d'un biais d'inactivation de l'X et/ou excès d'avortement intramédullaire des clones déficitaires. Se pose donc la question d'une sous-estimation de ces déficits chez des hétérozygotes pauci-symptomatiques et de l'implication du locus *G6PD* dans des présentations de fausses couches spontanées précoces à répétition. Nous rapportons deux cas de mutation nulle hétérozygote associés à une hémolyse chronique : p.Ser114TerFs1 (S94Xfs1) et p.Trp83Ter (W53X). Les rapports d'activité G6PD / Pyruvate kinase et G6PD / Hexokinase sont similaires à ceux d'un déficitaire hémizyote. L'étude exhaustive du gène *G6PD* (séquence codante, régions régulatrices) n'a retrouvé aucune autre mutation. Aucun homme porteur de la mutation n'a été identifié dans ces familles. Ces observations rarissimes pourraient remettre en cause la notion de biais excessif d'inactivation de l'X associé aux mutations de classe I, dans la lignée érythroïde. Ainsi, l'absence totale d'activité G6PD pourrait ne pas être létale à l'échelle cellulaire.

### #3529 : Hétérogénéité clinique et moléculaire du déficit en glucose phosphate isomérase (GPI)

#### Auteurs :

Claude Préhu (1), Michel Bahuau (1), Marie-Odette Balleyguier (2), Corinne Guitton (3), Pierre-Jean Weiller (4), Claire Albert (1), Frédéric Galactéros (5), Benoît Funalot (1)

1. Génétique, Hôpital Henri-Mondor, Créteil, France
2. Biochimie, Hôpital Henri-Mondor, Créteil, France
3. Hématologie pédiatrique, Hôpital de Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France
4. Médecine interne, Hôpital de La Timone, Marseille, France
5. Unité des Maladies Génétiques du Globule Rouge, Hôpital Henri-Mondor, Créteil, France

**Mots clefs :** GPI, anémie hémolytique, dégénérescence neuromusculaire, glycolyse, neuroleukine

#### Résumé :

La Phosphohexose isomérase ou glucose phosphate isomérase (GPI) catalyse l'interconversion du glucose-6-phosphate et du fructose-6-phosphate, seconde étape de la glycolyse. A cette fonction cytosolique s'ajoutent des propriétés neurotrophiques de la forme circulante, d'où la terminologie alternative de neuroleukine. Le déficit en GPI est une forme syndromique relativement sévère d'anémie hémolytique corpusculaire qui ségrège sur le mode autosomique récessif. Le gène est localisé en position 19q13.11. Le déficit peut s'accompagner d'une symptomatologie neuromusculaire avec ataxie mixte, cérébelleuse et sensitive profonde, d'un déficit cognitif et d'une myopathie. La symptomatologie hématologique reste au premier plan et il existe des formes néonatales très sévères caractérisées par un *hydrops foetalis*, une atteinte neurologique majeure et un décès rapide après la naissance. Les patients qui survivent semblent être améliorés par la splénectomie. Nous présentons deux formes de déficit en GPI à révélation strictement hématologique. Le premier patient est une femme de 75 ans issue d'une union consanguine. Elle présente une anémie congénitale pour laquelle elle a été splénectomisée à l'âge de 20 ans. L'étude moléculaire met en évidence une mutation homozygote faux-sens de l'exon 17 du gène *GPI* : p.Arg483His(R472H). Cette mutation résulte d'une transition C→T en 5' d'un dimère CpG et a déjà été rapportée à l'état homozygote chez un homme de 25 ans présentant une hémolyse chronique compensée (Hb, 13,7 g/dl), sans atteinte neurologique. Le second patient est une jeune enfant de 26 mois issue d'une union non consanguine. Elle a présenté une anémie néonatale sévère d'emblée (Hb, 6 g/dl), macrocytaire et régénérative, qui a nécessité le recours à de nombreuses transfusions globulaires et à l'induction d'un traitement par EPO jusqu'à l'âge de 7 mois. L'étude moléculaire met en évidence une hétérozygotie composite p.[G159S]+[Arg483Cys(R472C)]. Ces mutations faux-sens sont héritées de parents hétérozygotes indemnes. Les deux résultent à nouveau d'une transition C→T en 5' d'un dimère CpG. La première siège dans l'exon 6 alternatif, spécifique de l'isoforme 2 courte ; elle a été précédemment rapportée dans un contexte d'anémie hémolytique chronique. La seconde, qui siège dans l'exon 17, est nouvellement identifiée mais le caractère non conservateur de la substitution d'acides aminés apporte un argument fort pour sa causalité. Ces observations strictement hématologiques posent à nouveau la question de la relation génotype-phénotype au locus *GPI* et de l'implication possible de l'épissage du messager primaire dans la physiopathologie du déficit en GPI.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

**#3530 : La banque de données « CFTR-France » : un accès public utile pour l'interprétation des variants rares.**

### Auteurs :

Corinne BAREIL (1), Corinne THEZE (1), Marie-Pierre AUDREZET (2), Claude FEREC (2), Thierry BIENVENU (3), Emmanuelle GIRODON (3), Pascale FANEN (4), Chadia MEKKI (4), Eric BIETH (5), Véronique GASTON (5), Patricia FERGELOT (6), Marie-Pierre REBOUL (6), Alain KITZIS (7), Guy LALAU (8), Adrien PAGIN (8), Marie-Claire MALINGE (9), Caroline RAYNAL (1), Mireille CLAUSTRES (1)

1. Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHRU de Montpellier, Montpellier, France
2. Génétique Moléculaire et Histocompatibilité, CHU de Brest, Brest, France
3. Biochimie et Génétique Moléculaire, Hôpital Cochin Brocca Hôtel Dieu, Paris, France
4. Biochimie et Génétique, GH Henri Mondor, Créteil, France
5. Génétique Médicale, CHU de Toulouse, Toulouse, France
6. Génétique Moléculaire, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France
7. Génétique, CHU de Poitiers, Poitiers, France
8. Biochimie et Biologie Moléculaire, CHU de Lille, Lille, France
9. Biochimie et Génétique, CHU d'Angers, Angers, France

**Mots clefs :** Banque de données génétique, libreaccès, gène CFTR, Mucoviscidose, CFTR-RD, interprétation des variants, corrélations génotype/phénotype

### Résumé :

A ce jour, plus de 2 000 variations dans le gène *CFTR* sont répertoriées au niveau mondial. Elles peuvent être associées à des phénotypes variés : de la mucoviscidose à des pathologies mono-symptomatiques ou *CFTR*-Related Disorders (*CFTR*-RD). Toutefois, la corrélation génotype/phénotype n'est réellement établie que pour un nombre limité de variations fréquentes. La plupart étant des événements rares et majoritairement représentés par des variations faux-sens, il est difficile de déterminer leur implication dans la pathologie.

La banque de données *CFTR*-France a été créée en 2009 grâce à la collaboration de 9 laboratoires du réseau GenMucoFrance spécialisés dans l'analyse du gène et du Registre Français de la Mucoviscidose avec le soutien de l'Association Vaincre la Mucoviscidose. Elle regroupe les données génétiques et cliniques de patients atteints de mucoviscidose ou de *CFTR*-RD, de fœtus analysés sur signes d'appel échographiques, d'enfants analysés dans le cadre du dépistage néonatal et de sujets sains hétérozygotes composites. *CFTR*-France comprend plus de 16 000 données génétiques de 4 615 individus (64% atteints de mucoviscidose et 28% de *CFTR*-RD). Parmi les 736 variations différentes répertoriées, près de 40% sont des variants de signification clinique inconnue (VSCI). L'expérience de chaque laboratoire associée à des données bibliographiques, épidémiologiques ou issues d'études *in silico* et fonctionnelles permet d'obtenir une exhaustivité unique en matière d'évaluation de l'effet délétère de variants rares et de mutants polyvariants.

La plupart des variants rares de *CFTR*-France n'étant pas analysés dans la banque de données internationale *CFTR2*, la base génétique française se révèle extrêmement utile pour la communauté médicale et génétique quotidiennement confrontée à des situations diagnostiques délicates et en contexte d'urgence. *CFTR*-France est accessible aux laboratoires participants et au Registre Français via une interface web sécurisée. Les membres du réseau GenMucoFrance et les cliniciens ont un accès uniquement indirect aux données par le biais de demandes aux laboratoires collaborateurs. Aussi, afin de faciliter l'accès à ces données aux communautés médicale et scientifique ainsi qu'au grand public, nous proposons une interface web ouverte à tous. Elle fournit des informations générales sur le gène et la protéine, les variations de séquences et la pathologie *CFTR* ainsi que des statistiques globales sur les variations, génotypes et phénotypes. Un moteur de recherche permet également d'interroger directement la banque sur un variant d'intérêt. Ce site web permet de favoriser de nouveaux axes de recherche par des collaborations interdisciplinaires, d'apporter une aide précieuse pour le conseil génétique et de faciliter le recrutement des patients pour certains essais cliniques basés sur les thérapies émergentes.

Avec le soutien de Vaincre la Mucoviscidose

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #3538 : Hétérogénéité clinique et moléculaire du déficit en triose phosphate isomérase (TPI)

#### Auteurs :

Claude Préhu (1), Michel Bahuau (1), Marie-Odette Balleyguier (2), Bénédicte Collet (3), Claire Le Reun (4), Claire Albert (1), Gérard Michel (5), Lynda Benhafessa (6), Karima Yakouben (7), Mohand Saïd Abbad (8), Valentine Brousse (9), Frédéric Galactéros (10), Benoît Funalot (1)

1. Génétique, Hôpital Henri-Mondor, Créteil, France
2. Biochimie, Hôpital Henri-Mondor, Créteil, France
3. Pédiatrie, Centre Hospitalier de Roubaix, Roubaix, France
4. Réanimation pédiatrique, Hôpital Jeanne de Flandre, Lille, France
5. Neurologie, Hôpital de La Timone, Marseille, France
6. Pédiatrie, Hôpital Central de l'Armée, Alger, Algérie
7. Hématologie, Hôpital Robert-Debré, Paris, France
8. Cabinet Médical, Cité 130 Lgts, Akbou, Algérie
9. Pédiatrie, Hôpital Necker Enfants-Malades, Paris, France
10. Unité des Maladies Génétiques du Globule Rouge, Hôpital Henri-Mondor, Créteil, France

**Mots clefs :** TPI, anémie hémolytique, dégénérescence neuromusculaire, glycolyse

#### Résumé :

La Triose phosphate isomérase (TPI) est une enzyme de la glycolyse et de la glyconéogenèse qui permet l'interconversion des trioses phosphates. Ainsi, après clivage du D-fructose-1,6-diphosphate par l'aldolase, la dihydroxyacétone phosphate est réversiblement convertie en D-glycéraldéhyde-3-phosphate, seul substrat susceptible d'être métabolisé dans les étapes ultérieures de la glycolyse. Le déficit en TPI est une maladie autosomique récessive relativement rare chez l'homme, se manifestant classiquement par une anémie hémolytique congénitale, une défaillance multiviscérale avec dégénérescence neuromusculaire progressive et un décès par détresse cardio-respiratoire dans les premières années de vie. Des études *in vitro* chez l'homme, ainsi que le mutant *wasted away (wstd)* de *Drosophila melanogaster*, déficitaire en Tpi, permettent de poser l'hypothèse d'une accumulation causale de dihydroxyacétone phosphate, notamment dans les globules rouges, ainsi que de méthylglyoxal responsable, dans les neurones déficients, d'une accumulation de produits de glycation avancée. Le diagnostic est possible par la mesure de l'activité enzymatique dans les globules rouges, qui montre un effet de dosage génique avec des activités intermédiaires chez les hétérozygotes. Néanmoins, la fréquente nécessité de transfusions globulaires en période néonatale, ainsi que l'extrême sévérité du pronostic, imposent le recours au diagnostic moléculaire par étude du gène *TPI1*. Une mutation fréquente de l'exon 4 de ce gène (p.Glu104Asp), rendant compte d'une thermolabilité du dimère actif, est associée à une forme sévère de la maladie avec un décès à l'état homozygote entre 3 et 5 ans, mais qui peut survenir beaucoup plus tôt, avant l'âge d'un an. Cette mutation résulte d'un effet fondateur probablement très ancien puisqu'elle est retrouvée aussi bien en Europe (Grande-Bretagne) qu'en Afrique du nord. Des formes de déficit en TPI avec survie prolongée ont été rapportées, caractérisées par une atteinte neuromusculaire plus ou moins sévère (myopathie, déficit cognitif) et se limitant, à l'extrême, à un syndrome hémolytique chronique. Une relation génotype-phénotype est proposée par les auteurs. Dans le but d'illustrer la variabilité phénotypique et génotypique de cette maladie, mais aussi de discuter de stratégie diagnostique en contextes cliniques divers, nous rapportons des familles de déficit en TPI dans la forme classique homozygote pour la mutation p.Glu104Asp, mais également en association à des mutations non rapportées à ce jour. Il s'agit en particulier d'une présentation néonatale très sévère avec hétérozygotie composite p.[Glu104Asp]+[Cys87Tyr], mais également d'un syndrome hémolytique chronique avec myopathie et survie prolongée associé à une homozygotie pour la mutation faux-sens p.Arg18Trp.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #3540 : Diagnostic du déficit en G6PD et recherche des variants mutés A- et B- par PCR allèle spécifique (ARMS-PCR)

#### Auteurs :

rym dabboubi (1), nawel laouni (1), manel ayoub (1), salima ghazeil (1), marwa meddeb (1), taeib messaoud (1)

1. biochimie, hôpital d'enfant de Tunis, tunis, Tunisie

**Mots clefs :** Déficit en G6PD, Variant A-, Variant B-, ARMS-PCR

#### Résumé :

**Introduction:** Le déficit en Glucose-6-phosphate Déshydrogénase (G6PD) est l'enzymopathie érythrocytaire la plus répandue dans le monde. Dans ce présent travail, nous nous sommes intéressés à la détermination de l'incidence du déficit en G6PD chez une population pédiatrique et à l'identification de deux variants A<sup>-</sup> et B<sup>-</sup> les plus fréquents en Tunisie.

**Matériel et méthodes :** Notre étude a porté sur 84 patients (57 de sexe masculin et 27 de sexe féminin), dont 34 déficitaires suivis aux consultations de l'hôpital d'enfants Béchir Hamza de Tunis. Chaque patient a bénéficié d'une NFS et d'une détermination de l'activité enzymatique a été réalisée par méthode spectrophotométrique. Le diagnostic moléculaire chez les déficitaires et les porteurs a été réalisé par la technique ARMS-PCR appliquée au diagnostic moléculaire des variants A<sup>-</sup> et B<sup>-</sup>.

**Résultats et discussion :** Cette étude nous a permis d'identifier 34 sujets déficitaires en G6PD et 50 normaux. Nous sommes parvenus à identifier chez les 34 malades (28 de sexe masculin et 6 de sexe féminin), ayant une moyenne d'activité=  $1,18 \pm 0,99$  UI/ gHb, la mutation A- (202: G→A) a été identifié dans 58,82 % des cas, alors que la mutation B- (563:C→T) a été retrouvée dans 5,88% des cas. 17,64 % sont des déficitaires et dont la mutation est en cours d'identification. Les malades ayant présenté une activité normale en G6PD (50 malades) avaient une moyenne d'activité de  $9,95 \pm 4,34$  UI/gHb. Aucun des sujets non déficitaires n'a présenté le variant muté A ou B à l'état homozygote. Seules 14 % sont A<sup>-</sup> hétérozygotes et 4% sont B<sup>-</sup> hétérozygotes.

**Conclusion:** Le déficit en G6PD est une pathologie fréquente en Tunisie. Notre étude a permis de confirmer la fréquence de la pathologie dans notre pays. Sur le plan moléculaire, la confirmation des résultats phénotypiques du déficit en G6PD a été réalisée par la technique de ARMS-PCR. Cette technique présente ainsi l'avantage de fournir un diagnostic rapide appliqué souvent au dépistage de masse.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #3541 : Utilisation du modèle Drosophile dans la validation de gènes candidats dans le syndrome néphrotique cortico-résistant

#### Auteurs :

Sara GONCALVES (1), Noëlle LACHAUSSEE (1), Christelle ARRONDEL (1), Martin HELMSTADTER (2), Oliver KRETZ (3), Olivia BOYER (4), Olivier GRIBOUVAL (5), Christine BOLE-FEYSOT (6), Patrick NITSCHKE (7), Marie-Claire GUBLER (1), Tobias B HUBER (8), Géraldine MOLLET (1), Matias SIMONS (1), Corinne ANTIGNAC (9)

1. Inserm U1163, Institut Imagine, Université Paris Descartes, PARIS, France
2. Renal Division, University Hospital Freiburg, FREIBURG, Allemagne
3. Renal Division, University Hospital Freiburg, Department of Neuroanatomy, Albert-Ludwigs-University, FREIBURG, Allemagne
4. Inserm U1163, Institut Imagine, Université Paris Descartes, Néphrologie Pédiatrique, APHP Hôpital Necker, PARIS, France
5. Inserm U1163, Imagine Institute, Université Paris Descartes, , PARIS, France
6. Plateforme de génomique, Inserm U1163, Institut Imagine, Université Paris Descartes, PARIS, France
7. Plateforme de bioinformatique de l'Université Paris Descartes, , PARIS, France
8. Renal Division, University Hospital Freiburg, BIOS Albert-Ludwigs University, FREIBURG, Allemagne
9. Inserm U1163, Institut Imagine, Université Paris Descartes, Département de Génétique, APHP Hôpital Necker, PARIS, France

**Mots clefs :** Syndrome néphrotique, ADD3, KAT2B, mutations, exome, drosophile

#### Résumé :

Le syndrome néphrotique cortico-résistant (SNCR) est une maladie qui est caractérisée par une protéinurie massive et une évolution vers l'insuffisance rénale terminale. Le SNCR est génétiquement hétérogène et peut être associé à différentes atteintes extra-rénales. Les mutations identifiées dans les gènes impliqués dans le SNCR sont responsables d'altération de la barrière de filtration glomérulaire car la plupart des protéines codées par ces gènes sont exprimés dans le podocyte (une cellule épithéliale hautement différenciée dont les pieds s'enroulent autour des capillaires glomérulaires pour contrôler la filtration glomérulaire).

Nous avons utilisé le séquençage d'exomes chez les membres d'une famille consanguine atteints d'un syndrome néphrotique syndromique et nous avons pu identifier deux variants faux-sens homozygotes, potentiellement délétères dans les gènes ADD3 et KAT2B

Le premier gène code pour l'adducine, un important régulateur du cytosquelette d'actine et le second pour la lysine acetyltransferase KAT2B responsable de l'acétylation des histones.

Pour évaluer l'importance d'ADD3 et KAT2B sur la fonction podocytaire et l'impact de leurs mutations, nous avons utilisé le modèle Drosophile. Des expériences de *knock-down* (KD) et de sauvetage avec le gène humain sauvage et muté ont été réalisées, en utilisant le système UAS-GAL4 dans les néphrocytes de Drosophile, l'équivalent chez la mouche des podocytes. Des défauts au niveau moléculaire et ultrastructurel ont été mis en évidence en utilisant des immunomarquages, la microscopie électronique et des études fonctionnelles pour évaluer les fonctions de filtration/endocytose des néphrocytes.

Dans les néphrocytes de larves de stade 3, le KD d'adducine mais pas celui de KAT2B interrompait le cytosquelette d'actine, délocalisait la protéine du diaphragme de fente Kirre et entraînait une diminution de la filtration/endocytose. Au niveau ultrastructurel, le KD d'ADD3 entraînait une diminution du nombre de diaphragmes de fente et un effacement des pédicelles. Au stade adulte, les KD d'adducine et KAT2B entraînaient une diminution du nombre de néphrocytes. Alors que les expériences de sauvetage pour KAT2B sont toujours en attente, la forme sauvage mais pas la forme mutée d'adducine permet de sauver le phénotype du KD d'ADD3 concernant les défauts du cytosquelette d'actine et la mauvaise localisation de Kirre.

Ces résultats suggèrent qu'ADD3 joue un rôle majeur dans la morphologie et la fonction du podocyte et que la mutation d'ADD3 pourrait être responsable de certaines formes de SNCR. Cependant l'impact de la mutation de KAT2B sur le phénotype des patients ne peut pas être exclu.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

**#3544 : Variabilité clinique intrafamiliale marquée dans l'Epidermolyse Bulleuse Dystrophique due à la co-transmission de mutations dominantes et récessives de COL7A1**

### Auteurs :

Sandrina Turczynski (1), Matthias Titeux (1), Nathalie Pironon (1), Heather Cohn (2), Emmanuelle Bourrat (3), Dedee Murrell (4), Alain Hovnanian (5)

1. Laboratoire des maladies génétiques cutanées, Inserm UMR 1163 - Institut Imagine - Université Paris Descartes Sorbonne Cité, Paris, France
2. Department of Dermatology, St George Hospital, Sydney, Australie
3. Service de Dermatologie, Hôpital Saint-Louis, APHP, Paris, France
4. Department of Dermatology, St George Hospital, Sydney, France
5. Laboratoire des maladies génétiques cutanées, Inserm UMR 1163 - Institut Imagine - Université Paris Descartes Sorbonne Cité - Département de Génétique, Hôpital Necker Enfants-Malades, Paris, France

**Mots clefs :** Epidermolyse bulleuse Dystrophique, variabilité intra-familiale, COL7A1, conseil génétique

### Résumé :

Les patients souffrant d'épidermolyse bulleuse dystrophique dominante (EBDD) ou récessive (EBDR) présentent une grande hétérogénéité clinique allant de décollements cutanéomuqueux localisés jusqu'aux formes généralisées et sévères engageant le pronostic vital. Les EBD sont dues à des mutations du gène *COL7A1* codant le collagène VII qui forme les fibres d'ancrages à la jonction dermo-épidermique. Nous rapportons les cas de deux familles présentant une grande variabilité de sévérité clinique intrafamiliale. La première famille est australienne, sans consanguinité, dans laquelle la sévérité et l'étendue de l'atteinte de deux frères contrastait avec le phénotype d'EBDD modérée transmis sur 3 générations du côté maternel (dystrophie unguéale et bulles occasionnelles des jambes). A l'opposé, les deux frères ont développé dès la naissance des érosions cutanées étendues conduisant à des fusions des extrémités, des rétractions articulaires, des sténoses oesophagiennes et un retard statuto-pondéral (forme généralisée sévère). L'aîné est décédé à l'âge de 8 ans des suites d'une cardiomyopathie. L'analyse des biopsies cutanées des deux frères a montré une nette réduction du marquage du collagène VII et des fibres d'ancrage (FA) rares et rudimentaires. Celles-ci étaient normales chez les apparentés atteints d'EBDD peu sévère. Le séquençage de *COL7A1* a permis d'identifier une seule mutation (c.6698G>A ; p.Gly2233Asp) dans l'exon 84 présente à l'état hétérozygote chez les 2 frères ainsi que chez tous les membres atteints d'EBDD testés de la famille. L'analyse des transcrits des 2 frères et de leur père sain a permis d'identifier une seconde mutation intronique IVS19+40G>A à l'état hétérozygote conduisant à une anomalie d'épissage de l'intron 19 et un codon stop prématuré. La seconde famille est d'origine française et présente une EBDD familiale très modérée transmise sur 3 générations du côté maternel. La proposante est atteinte d'une forme relativement sévère d'EBD avec des lésions étendues, atrophiques et des rétractions sans fusion des extrémités (généralisée intermédiaire). Cette sévérité contrastait avec la présentation de sa mère atteinte d'EBDD et des autres apparentés atteints du côté maternel. Le séquençage de *COL7A1* chez la proposante a permis de montrer qu'elle était hétérozygote composite pour une mutation faux sens de l'exon 73 héritée de sa mère et une mutation faux sens récessive de l'exon 30 héritée de son père. Ces résultats démontrent qu'une variabilité clinique marquée survenant dans une famille atteinte d'EBDD doit faire rechercher une mutation récessive associée dont l'identification peut nécessiter l'étude de transcrits de *COL7A1*. Ces résultats ont une importance pour le suivi clinique, le conseil génétique et les nouvelles approches thérapeutiques envisagées.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #3547 : Existe-il un impact des polymorphismes situés au niveau de PARP1, IL1 $\beta$ et IFN $\gamma$ sur la spermatogenèse?

#### Auteurs :

Mariem Ben Khelifa (1), Mohamed EL Sirkasi (2), Denise Molina Gomes (1), Marc Bailly (1), Jacqueline Selva (1), François Vialard (3), Florence Boitrelle (1)

1. Laboratoire d'Histologie, Embryologie, Biologie de la Reproduction, Cytogénétique et Génétique Médicale., CHI de Poissy St Germain en Laye, poissy, France
2. INSERM, U407, Université de Lyon I, Lyon, France
3. Laboratoire d'Histologie, Embryologie, Biologie de la Reproduction, Cytogénétique et Génétique Médicale., CHI de Poissy St Germain en Laye, Poissy, France

**Mots clefs :** Polymorphisme, Spermatogenèse, Infertilité

#### Résumé :

Introduction : L'infertilité est une pathologie multifactorielle liée notamment à des facteurs environnementaux et des facteurs de prédisposition géniques. Nous avons précédemment montré que la fréquence du polymorphisme en -308 du gène de TNF $\alpha$  variait en fonction de la numération et de la mobilité spermatique, alors que celui en -238 n'avait aucun effet (Tronchon et al, 2008). De plus, il est apparu que ce même polymorphisme TNF $\alpha$ -308 avait un impact sur le profil hormonal des patients oligo-azoospermiques. En utilisant la même population de patients, l'objectif de cette nouvelle étude est d'évaluer la fréquence et l'impact de 3 autres polymorphismes à savoir 2 cytokines : l'interleukine 1 $\beta$  (IL1 $\beta$ -511) et l'interféron  $\gamma$  (IFN $\gamma$ +874) toutes deux impliquées dans des mécanismes de régulation de la spermatogenèse, et celui d'un gène impliqué dans les mécanismes de réparation de l'ADN : PARP-1 (PARP-1-Val762Ala).

Matériels et méthodes : 594 patients infertiles ont été inclus dans cette étude après obtention d'un consentement éclairé. Ceux ci ont été répartis en différents groupes en fonction des caractéristiques spermatiques et en fonction de l'origine de l'altération de la spermatogenèse.

- Groupe 1: 53 patients ayant une oligo-azoospermie d'origine non obstructive
- Groupe 2: 225 patients ayant une oligo-azoospermie d'une origine obstructive
- Groupe 3: 60 patients ayant une oligo-azoospermie d'origine mixte
- Groupe 4: 174 patients ayant une numération spermatique normale, mais une altération des autres caractéristiques spermatiques
- Groupe 5: 82 patients ayant un spermogramme normal

L'ADN des patients a été extrait à partir du Wizard Genomic DNA Purification Kit (Promega, Southampton, UK). Les polymorphismes ont été étudiés en utilisant une PCR allèle spécifique avec des sondes de type Taqman.

Résultats : La fréquence des polymorphismes a été retrouvée de façon identique à la population générale. Aucune différence n'a été observée entre les différents groupes de patients avec des fréquences variant entre 18 et 34% pour PARP-1-Val762Ala, entre 40 et 49% pour IL1 $\beta$ -511 et entre 40% et 54% pour IFN $\gamma$ +874. De plus, dans les groupes 2 et 4, aucune variation du profil hormonal n'a été observée en fonction de la présence ou non du polymorphisme

Conclusion : A la différence du polymorphisme TNF $\alpha$ -308, aucune variation de fréquence des polymorphismes n'a été observée chez les patients infertiles. De plus il ne semble pas que ces polymorphismes aient un impact sur le bilan hormonal des patients. Malgré le fait que les polymorphismes étudiés ne semblent pas avoir d'impact sur l'altération des paramètres spermatiques chez les patients infertiles, nous allons continuer l'exploration de ces familles de gènes dans les cas d'infertilité spermatique. L'objectif est que l'étude des profils de SNPs pourrait être utilisée pour une meilleure approche thérapeutique des couples infertiles et pour leur prise en charge.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

**#3551 : Etude en CGH array et exome de 6 patients avec un syndrome de Williams Beuren et des troubles du spectre autistique.**

### Auteurs :

Julie Masson (1), Julie Masson (1), Massimiliano Rossi (2), Giuseppe Testa (3), Audrey Labalme (1), Renaud Touraine (4), Brigitte Gilbert Dussadier (5), Fabienne Giuliano (6), Alain Verloes (7), Caroline Demily (8), Sylvie Tordjman (9), Patrick Edery (2), Damien Sanlaville (2)

1. Service de génétique, Groupement Hospitalier Est, CHU de Lyon , Lyon, France
2. Service de génétique; INSERM, U1028 ; CNRS, UMR5292 ; GENDEV Team, UCBL1, Groupement Hospitalier Est, CHU de Lyon , Lyon, France
3. Laboratory of Stem Cell Epigenetics, European Institute of Oncology, Milan, Italie, Milan, Italie
4. Service de génétique clinique chromosomique et moléculaire, Pôle de biologie, CHU de Saint Etienne, Saint Etienne, France
5. Service de génétique médicale, CHU de Poitiers, Poitiers, France
6. Service de génétique médicale, CHU de Nice, Nice, France
7. Service de génétique clinique, Hôpital Robert-Debré, AP-HP, Paris, France
8. Centre de dépistage et prises en charge des troubles psychiatriques d'origine génétique, CH le Vinatier, Lyon, Lyon, France
9. Pôle Hospitalo-Universitaire de Psychiatrie Enfant et Adolescent, Université de Rennes , Rennes, France

**Mots clefs :** Autisme Williams Exome

### Résumé :

Le syndrome de Williams Beuren (WBS), est dû à une microdélétion 7q11.23 et est caractérisé cliniquement par une atteinte multisystémique incluant une dysmorphie caractéristique, des anomalies vasculaires et une déficience intellectuelle. Le profil neuropsychologique est généralement hétérogène : les compétences langagières sont relativement préservées et les interactions avec autrui sont caractérisées par une "appétence sociale", avec une tendance à vouloir interagir de manière familière avec les autres, associée avec une compréhension plutôt superficielle des échanges. Récemment, plusieurs patients WBS présentant une atteinte neurologique atypique, à type de troubles du spectre autistique (TSA), ont été rapportés. Bien que, en l'absence de données épidémiologiques fiables, un biais ne puisse pas être écarté, les données empiriques évoquent une possible prévalence des TSA dans le SWB supérieure à celle dans la population générale. Par ailleurs, la région 7q11.23 est connue pour être impliquée dans des TSA quand elle est dupliquée et plusieurs études proposent le gène *GTF2I* comme candidat pour des troubles de la socialisation. L'hypothèse que les TSA observés dans le SWB puissent avoir une étiologie génétique homogène a été donc évoquée (dérégulation de gène(s) localisé(s) dans la région 7q11.23 ?).

Nous avons étudiés 6 patients avec un WBS et des TSA formellement confirmés (ADOS, ADI-R). Nous avons réalisé une étude en CGH array afin de caractériser la taille de la microdélétion 7q11.23 et d'évaluer l'éventuelle présence d'autre CNV associé. Les patients sont tous porteurs de la délétion classique de 1,4 Mb et aucun autre CNV pathogène n'a été retrouvé chez 5 patients ; chez le 6<sup>e</sup> patient, un CNV de 386 kb en 10q26.3 a été étiqueté VOUS.

Nous avons donc réalisé une étude par séquençage d'exome pour l'ensemble des patients et pour les parents de 3 d'entre eux. Les données générées ont été analysées avec le logiciel Eris de la société Intergagen. En premier lieu, nous avons recherché une mutation dans un gène localisé en regard de la microdélétion 7q11.23. Les hypothèses ont également été étendues à la recherche d'une mutation dominante *de novo*, à une transmission récessive, avec la recherche de 2 mutations identiques ou d'une hétérozygotie composite ou à un mode de transmission liée à l'X. L'interprétation des données est actuellement en cours et une étude fonctionnelle sur IPSC est prévue en collaboration. Nous sommes intéressés à inclure dans cette étude d'autres patients atteints de WBS et TSA.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #3558 : Mild case of Nemaline Myopathy carrying a KLHL 40 mutation

#### Auteurs :

Andreea M. Seferian (1), Edoardo Malfatti (2), Caroline Bosson (3), Laurent Pelletier (4), Jessica Taytard (5), Teresa Gidaro (6), Veronique Forin (6), Elena Gargaun (6), Romero Norma B. (2), Julien Fauré (4), John Rendu (4), Laurent Servais (7)

1. Institut de Myologie, Paris, France, , paris, France
2. Unité de Morphologie Neuromusculaire, Institut de Myologie, Groupe Hospitalier Universitaire La Pitié-Salpêtrière, Paris, France, , Paris, France
3. Département de Biochimie, Biochimie et Génétique Moléculaire, Toxicologie et Pharmacologie, Grenoble, Université Grenoble Alpes, GIN Institut des Neurosciences de Grenoble, France, , Grenoble, France
4. Département de Biochimie, Biochimie et Génétique Moléculaire, Toxicologie et Pharmacologie, Grenoble, Université Grenoble Alpes, GIN Institut des Neurosciences de Grenoble, France, , grenoble, France
5. Pediatric Pulmonary Department, AP-HP, Hôpital Trousseau, Université Pierre et Marie Curie-Paris6, Inserm U938, 26, avenue du Docteur Arnold-Netter, 75012 Paris, France, , Paris, France
6. Pediatric Rehabilitation Department, AP-HP, Hôpital Armand Trousseau, Paris, France, , Paris, France
7. Institut de Myologie, Paris, France, , Paris, France

**Mots clefs :** KLHL40, nemaline, myopathy

#### Résumé :

To date, ten genes have been identified for nemaline myopathy , a common congenital myopathy. Mutations in the *KLHL40* (kelch-like family member 40) gene are the most common cause for the severe form of NM. Clinically, these patients present foetal akinesia, hyperkinesia and contractures, respiratory failure and swallowing difficulties at birth. The survival varies between the neonatal period to adolescence. We present the case of an 8-year-old girl from first degree cousins Moroccan parents, with no medical history. One of her two older sisters presented with congenital cataract. The pregnancy was uneventful and she was born at 39 gestational weeks with a weight of 3200 grams, a length of 50 cm. She was quickly hospitalised in the neonatal unit for axial hypotonia, difficult eye contact and poor sucking.

Her evolution slowly improved. Hypomimia, deficit of the orbicularis oculi and drooling were noticed. The patient was able to support her head at 6 months. Walking was achieved at around 20 months. At 3 years, she was able to run and ride a bike but had difficulties in climbing stairs. She had a waddling gait and predominant axial weakness. Gowers sign was negative. All the activities were performed very slowly. The patient complained a lot about tiredness and used a manual wheel chair for long distances. The neck flexors and extensors were weak. Her coughing was rather inefficient and the sniff nasal inspiratory pressure was low.

Last seen at 8 years and 2 months, she measured 20 kg (5<sup>th</sup> percentile) for a 129 cm in height (50<sup>th</sup> percentile) and had of normal intelligence. She walked 599 meters at the 6-minute walking test and was able to climb some steps without the rail. The Gowers sign was negative.

At first, an extensive metabolism work-up was carried on and no specific abnormality was detected. The karyotype was normal and molecular diagnosis for Prader Willi and Steinert myotonic dystrophy was negative.

The muscle biopsy was performed at the age of 3 years and nemaline myopathy was diagnosed.

The molecular analysis for *ACTA1*, *TPM2*, *TPM3*, *KBTBD13*, *LMOD3*, *TNNT1*, *CFL2* and *KLHL41* by exon sequencing did not find any abnormalities. The linkage analysis for the *NEB* locus was not contributory. A mutation search in *KLHL40* found a homozygous variation of the *KLHL40* gene, c.1498C > T (p.Arg500Cys), predictive to be pathogenic. Immunohistochemistry and western blot revealed a severe decrease of the protein

To our knowledge, this is the first case *KLHL40* caused nemaline myopathy with a mild phenotype.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

**#3560 : Identification de trois changements nucléotidiques au niveau du gène MT-CYB chez des patients atteints de myopathies mitochondriales.**

### Auteurs :

Raouia GHORBEL (1), Rania GHORBEL (1), Neila Belguith (1), Chahnez Triki (2), Mongia Hachicha (3), Leila Ammar-Keskes (1), Faiza Fakhfakh (1)

1. Laboratoire de génétique moléculaire humaine, Faculté de médecine de Sfax, Sfax, Tunisie
2. Service de Neuropédiatrie , CHU Hédi Chaker, Sfax, Tunisia , Sfax, Tunisie
3. Service de Pédiatrie , CHU Hédi Chaker, Sfax, Tunisia , Sfax, Tunisie

**Mots clefs :** myopathies mitochondriales, MT-CYB, m.14766 C>T, m.14769 A>G, m.14783 T>C.

### Résumé :

Les myopathies mitochondriales regroupent de nombreuses affections héréditaires qui résultent d'un dysfonctionnement du métabolisme énergétique mitochondrial touchant en particulier les complexes de la chaîne respiratoire mitochondriale. Des mutations au niveau des gènes mitochondriaux ou nucléaires impliqués dans la chaîne respiratoire sont responsables de ces maladies.

L'objectif de ce travail est de chercher des mutations et/ou des polymorphismes au niveau des gènes mitochondriaux *MT-CYB*, *ARNt<sup>Glu</sup>* et *ARNt<sup>Leu</sup>*, chez cinq patients atteints de myopathies mitochondriales. Cette recherche a été réalisée par le séquençage direct de ces gènes.

Le séquençage du gène codant l'*ARNt<sup>Glu</sup>* avec les séquences flanquantes couvrant une région du gène du cytochrome b (*MT-CYB*) et une autre du gène *ND6* ont montré la présence d'une transition C14766T (m.14766 C > T) au niveau du gène *MT-CYB* chez les cinq patients. Cette transition entraîne une substitution de l'acide aminé Thréonine en Isoleucine au niveau de la position 7 (p.T7I) de la protéine cytochrome b.

De plus, une transition A14769G (m.14769 A > G) a été détectée au niveau du gène *MT-CYB* chez un seul patient. Ce polymorphisme entraîne la substitution de l'acide aminé Asparagine en Sérine au niveau de la position 8 de la protéine cytochrome b (p.N8S).

L'alignement de la séquence en acide aminée de la protéine cytochrome b chez plusieurs espèces a montré que ces deux changements nucléotidiques sont situés dans une région assez conservée.

Aussi, un autre polymorphisme T14783C (m.14783 T > C) a été révélé dans le gène *MT-CYB* chez deux autres patients. Cette transition ne provoque pas un changement au niveau de la séquence des acides aminés à la position 13 de la protéine (p.L13L).

Le séquençage du gène codant l'*ARNt<sup>Leu</sup>* n'a montré aucun changement nucléotidique chez les patients étudiés.

En conclusion, cette étude a permis d'identifier trois changements nucléotidiques décrits au niveau du gène *MT-CYB* chez cinq patients atteints de myopathies mitochondriales.

### #3562 : Comorbidity in inbreeding populations: some examples from the Tunisian population

#### Auteurs :

Lilia Romdhane (1), Olfa Messaoud (1), Yosra Bouyacoub (2), Emna Kerkeni (3), Chokri Naouali (1), Amel Ben Chehida (4), Lamia Ben Abdallah (1), Afaf Tiar (1), Cherine Charfeddine (1), Safa Romdhane (1), Kamel Monastiri (5), Imen Chabchoub (6), Mongia Hachicha (6), Ghazi Omar Tadmouri (7), Giovanni Romeo (8), Sonia Abdelhak (1)

1. Biomedical Genomics and Oncogenetics Laboratory, Institut Pasteur de Tunis, Tunis Belvédère, Tunisie
2. Biomedical Genomics and Oncogenetics Laboratory, Institut Pasteur de Tunis, Tunis Belvédère, France
3. Laboratoire de Pharmacologie, Faculté de Médecine de Monastir, Monastir, Tunisie
4. Pediatric Department, Rabta Hospital, Tunis, France
5. Service de Réanimation et de Médecine Néonatale, Centre de Maternité & de Néonatalogie de Monastir, EPS Fattouma Bourguiba, Monastir, Tunisie
6. Service de Pédiatrie, CHU Hédi Chaker, Sfax, Tunisie
7. Faculty of Public Health, Jinan University, Tripoli, Liban
8. Unità Operativa di Genetica Medica, Dipartimento di Scienze Mediche e Chirurgiche Policlinico Sant'Orsola-Malpighi, Bologna, Italie

**Mots clefs :** Comorbidity, consanguinity, founder mutation, genetic counseling, genetic disease, genetic mapping, prenatal diagnosis, Tunisia

#### Résumé :

Tunisia is a North African country of 11 million inhabitants marked by invasions of different ethnic groups throughout its history. These historical events, along with economic and socio-cultural factors, especially consanguinity and inbreeding, have shaped the genetic background of the Tunisian population. This could be exemplified by the spectrum of the genetic diseases in the population and their particular features making them a serious health problem in the country. Actually, not less than 400 disorders of genetic origins have been described in the Tunisian population of which more than 60% are recessively transmitted. In addition, 75 disease associations referred to as comorbidity have been reported among Tunisian families. This comorbidity could be individual or familial. In 39 comorbid associations, consanguinity was noted. Twenty-one founder and 11 private mutations are the cause of 34 primary diseases and 13 of associated diseases. Recent postgenomic tools appear the best approach to unravel the molecular basis of cases of individual comorbidity even when this approach is based on a single affected person and to confirm the new phenotypic expression as a continuum of the phenotype spectrum of the disease. However, genomic results that arise from next-generation sequencing must be interpreted with caution when incidental findings are reported especially in the context of inbred populations as they could be the causes of putative comorbid associations. As the information dealing with this phenomenon is fragmented, it is important to centralize them in order to draw both clinicians' and researcher's attention on the occurrence of such disease associations in inbred populations as it makes genetic counseling and prenatal diagnosis challenging even when mutations are known.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

**#3563 : Myopathie, arthrogrypose et hyperthermie maligne chez un enfant d'origine Comorienne : penser à la Myopathie Américaine Native liée au gène STAC3**

### Auteurs :

Stéphanie ROBIN (1), Bérénice DORAY (2), Patrick MUNIER (2), Denis VERHEULPEN (3), François CARTAULT (2), Christine PAYET (2)

1. Pédiatrie, CHU La Réunion Site Félix Guyon, SAINT-DENIS, France
2. Génétique, CHU La Réunion Site Félix Guyon, SAINT-DENIS, France
3. , Hôpital d'Enfants, SAINT-DENIS, France

**Mots clefs :** Myopathie Américaine Native - STAC3 - Arthrogrypose -

### Résumé :

La Myopathie Américaine Native American (MAN) [OMIM 255995] est une affection transmise sur le mode autosomique récessif rapportée uniquement chez les Indiens Lumbee de Caroline du Nord. Elle associe une faiblesse musculaire associée à une arthrogrypose, une cyphoscoliose, des pieds bots, un retard statural, un ptosis, une fente palatine et une hyperthermie maligne provoquée par les anesthésiques. La MAN est liée à une mutation homozygote 1046G-C de l'exon 10, (W284S; 615521.0001), retrouvée chez tous les patients Amérindiens identifiés.

Nous rapportons l'observation de Mohammad, cinquième enfant d'un couple Comorien non apparenté sans antécédent médical notable. Après une grossesse sans particularité, Mohammad naît à terme avec des paramètres de croissance normaux. L'examen clinique révèle une fente palatine médiane, une camptodactylie bilatérale des troisièmes, quatrièmes et cinquième doigts et des pieds bots. Un phénotype de Gordon est évoqué. L'évolution est marquée par une hypotonie globale avec une marche acquise à deux ans. Le développement cognitif est normal. L'enfant présente une surdité légère et c'est à l'occasion d'un bilan ORL sous anesthésie générale qu'il va présenter une hyperthermie maligne sous Sevorane.

A 14 ans, l'examen clinique retrouve une hypotonie globale avec une faiblesse musculaire. Mohammad présente un visage allongé, un nez proéminent, une petite bouche avec des lèvres charnues, un palais étroit opéré et une camptodactylie persistante des articulations interphalangiennes distales. L'ACPA est normale et la recherche de maladie de Steinert négative.

Compte tenu de la similitude entre le phénotype présenté par cet enfant Comorien et la MAN, un séquençage du gène *STAC3* est réalisé, permettant d'identifier la même mutation faux-sens dans l'exon 10 que celle rapportée chez les patients Américains. Cette mutation est présente à l'état hétérozygote chez les parents de Mohammad et une de ses sœurs.

Cette observation est importante à deux titres : d'un point de vue clinique, elle démontre l'intérêt d'une étude de *STAC3* chez tout patient présentant une faiblesse musculaire, une arthrogrypose distale, une fente palatine associée à une hyperthermie maligne aux anesthésiques halogénés chez tout patient, quelle que soit son origine géographique et pas seulement chez un Amérindien ; d'un point de vue de la génétique des populations, elle pose la question d'une possible origine Africaine de la Communauté Indienne Lumbee dont l'origine Américaine native était discutée de longue date.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #3564 : Exploration de la cause génétique du syndrome de Rett par l'étude moléculaire du gène candidat MECP2

#### Auteurs :

Rania GHORBEL (1), Raouia GHORBEL (1), Neila Belguith (1), Aida Rouissi (2), Chahnez Triki (3), Naziha Gouider-Khouja (2), Leila Ammar-Keskes (1), Faiza Fakhfakh (1)

1. Laboratoire de génétique moléculaire humaine, Faculté de médecine de Sfax, Sfax, Tunisie
2. Service de neurologie de l'enfant et de l'adolescent, Institut national Mongi Ben Hmida de neurologie, Tunis, Tunisie
3. Service de Neuropédiatrie , CHU Hédi Chaker, Sfax, Tunisia , Sfax, Tunisie

**Mots clefs :** Syndrome de Rett, MECP2, p.R106W, p.R255X, p.R168X

#### Résumé :

Le syndrome de Rett est une atteinte neurologique. Elle affecte presque exclusivement les filles avec une prévalence d'environ 1/10 000 à 1/15 000. Cette maladie apparaît entre l'âge de 6 à 18 mois de la fille. Le signe le plus distinctif est l'apparition des mouvements stéréotypés des mains. Cette maladie génétique est causée par des anomalies dans le gène *MECP2* (Methyl-CpG-Binding Protein 2) codant pour la protéine MeCP2 ayant un rôle dans la méthylation.

L'objectif de ce travail est la recherche de mutations et/ou les polymorphismes au niveau du gène *MECP2* chez 3 patientes atteintes du syndrome de Rett. Cette recherche a été réalisée par séquençage direct des 4 exons du gène et des séquences introniques flanquantes.

Grâce au séquençage automatique du gène *MECP2*, trois mutations ponctuelles ont été identifiées telles que, (c.316C>T ; p.R106W) localisée dans l'exon 3 et (c.502 C>T ; p.R168X ; c.763 C>T ; p.R255X) localisées dans l'exon 4.

En effet, la mutation (c.316C>T ; p.R106W) est une transition qui substitue le résidu Arginine conservé par un résidu Tryptophane à la position 106 et au niveau du domaine MBD de la protéine MeCP2.

En outre, la mutation (c.502 C>T ; p.R168X) est une transition qui substitue le résidu Arginine conservé en un codon stop conduisant à une protéine MeCP2 tronquée. Cette mutation est localisée entre le domaine MBD et TRD de la protéine MeCP2.

Aussi, la mutation (c.736 C>T ; p.R255X) est une transition qui substitue le résidu Arginine conservé par un codon stop entraînant une protéine MeCP2 tronquée. Cette mutation est située dans le domaine TRD-NLS de la protéine MeCP2. Elle affecte la capacité de la protéine MeCP2 de réprimer la transcription.

En conclusion, cette étude a permis d'identifier trois mutations ponctuelles connues dont une est localisée au niveau de l'exon 3 et deux sont localisées dans l'exon 4 du gène *MECP2* chez trois patientes atteintes du syndrome de Rett.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

**#3569 : Impact de la polarisation des monocytes (phénotype M1 ou M2) sur l'expression des gènes de l'inflammasome NLRP3 impliqué dans les syndromes CAPS (cryopyrin-associated periodic syndromes)**

### Auteurs :

Fawaz Awad (1), Eman Assrawi (1), Claire Jumeau (1), Sophie Georgin-Lavialle (1), Philippe Duquesnoy (1), William Piterboth (2), Laetitia Cobret (1), Lucie Thomas (1), Gilles Grateau (1), Serge Amselem (3), Sonia-Athina Karabina (1)

1. Inserm, Sorbonne Universités UMPC Univ Paris 06, UMRS\_933, Hôpital Trousseau, Paris, France
2. U.F. de Génétique moléculaire (Assistance Publique – Hôpitaux de Paris), Hôpital Trousseau, Paris, France
3. Inserm, Sorbonne Universités UMPC Univ Paris 06, UMRS\_933 & U.F. de Génétique moléculaire (Assistance Publique – Hôpitaux de Paris), Hôpital Trousseau, Paris, France

**Mots clefs :** Maladies auto-inflammatoires, polarisation des monocytes, NLRP3, inflammasome

### Résumé :

Un aspect essentiel de l'immunité innée et de l'inflammation chronique est la polarisation des monocytes, cellules dotées d'une plasticité remarquable. Les monocytes répondent à certains stimulus par la modification rapide de l'expression de nombreux gènes liés à l'inflammation via une polarisation vers un phénotype pro-inflammatoire (M1) ou anti-inflammatoire (M2). Parmi les récepteurs intracellulaires des monocytes, les récepteurs Nod-like (NLRs) participent à la formation de complexes multiprotéiques, appelés inflammasomes, qui associent une protéine NLR à la protéine adaptatrice ASC et à la caspase-1 (CASP1). L'activation de l'inflammasome NLRP3 (protéine également appelée cryopyrin), par différents stimulus, dont le LPS, déclenche le clivage protéolytique de la pro-caspase-1 en caspase-1 active, qui, à son tour, convertit les précurseurs inactifs de l'IL-1b et l'IL-18 en leurs formes matures. L'IL-1b et l'IL-18 jouent un rôle crucial dans l'inflammation systémique induisant l'expression de gènes pro-inflammatoires et amplifiant ainsi la réponse inflammatoire. Il est clairement établi que l'inflammasome NLRP3 joue un rôle central dans de nombreuses pathologies inflammatoires dont un sous-groupe de maladies mendéliennes auto-inflammatoires : les *cryopyrin-associated periodic syndromes* ou CAPS. Cependant, peu de données sont disponibles sur l'impact potentiel de la polarisation des monocytes sur l'expression des gènes de cet inflammasome.

Le but de cette étude est d'établir le profil d'expression des gènes de l'inflammasome NLRP3 dans un modèle expérimental des monocytes humains polarisés (phénotype M1/M2) avant et après activation par le LPS.

Les monocytes ont été sélectionnés par adhérence à partir des cellules mononucléées, et cultivés en présence de sérum humain et d'IFN-g (pour une polarisation M1) ou d'IL-4 et d'IL-13 (pour une polarisation M2), puis traités par LPS. L'expression des gènes l'inflammasome NLRP3 (*NLRP3*, *ASC* et *CASP1*) a été étudiée par RT-qPCR avant et après polarisation, en l'absence et en présence de LPS.

Nos résultats montrent que la polarisation (M1 ou M2) modifie peu ou pas l'expression de *NLRP3* et *ASC* dans les conditions basales. En revanche, en présence de LPS, l'expression de *NLRP3* est fortement augmentée; cette même augmentation est également présente dans les monocytes M1 activés par le LPS, alors que l'expression de *NLRP3* est quasiment inchangée dans les monocytes M2 traités par LPS. De façon remarquable, l'expression de *ASC* est fortement diminuée en présence de LPS, et ce dans toutes les conditions testées (monocytes non polarisés, et monocytes M1 et M2). Quant à l'expression de *CASP1*, elle est augmentée dans les monocytes M1, en l'absence ou en présence de LPS.

Ces données, qui sont actuellement complétées par l'étude des protéines correspondantes dans les mêmes conditions expérimentales, démontrent l'impact majeur de la polarisation des monocytes sur l'expression de ces trois gènes clés de l'inflammasome NLRP3.

### #3570 : Identification pangénomique de transcrits chimères initiés par des éléments LINE-1 dans les gliomes

#### Auteurs :

Marie Elisa PINSON (1), Romain POGORELCNIK (1), Emmanuel CHAUTARD (2), Pierre VERRELLE (2), Philippe ARNAUD (1), Catherine VAURS-BARRIERE (1)

1. GReD UMR INSERM1103 CNRS6293, Faculté de Médecine, Clermont-Ferrand, France
2. CReAT, Centre Jean Perrin, Clermont-Ferrand, France

**Mots clefs :** LINE-1, gliomes, hypométhylation, transcrit chimère

#### Résumé :

Les rétrotransposons LINE-1 (L1) correspondent à une classe abondante d'éléments transposables qui représente 17% du génome humain. La région promotrice des L1 contient un promoteur bidirectionnel comprenant un promoteur sens interne qui contrôle la transcription de l'élément et un promoteur antisens (ASP). Le principal moyen de répression des L1, développé pour éviter les effets délétères associés à une activité de transposition des L1, consiste en la méthylation de la séquence promotrice.

Une caractéristique des cellules tumorales correspond à l'hypométhylation globale de l'ADN, qui se produit notamment au niveau des L1. Des évidences expérimentales suggèrent que cette hypométhylation activerait la transcription à partir de l'ASP, contribuant à la production de transcrits chimères aberrants composés à leur extrémité 5' de la séquence promotrice L1 et à leur extrémité 3' d'une séquence génomique unique correspondant à la séquence adjacente à l'élément L1. Cependant, l'impact au niveau de l'ensemble du génome de l'expression de ces transcrits chimères dans la tumorigenèse reste mal évalué.

Afin d'étudier l'étendue pangénomique de cette dérégulation transcriptionnelle dans les tumeurs et son impact dans l'initiation, la progression et l'agressivité tumorale, un outil bioinformatique dédié a été développé au sein de l'équipe pour analyser des données de RNA-seq orientés paired-end. Cet outil a été designé pour identifier, parmi les lectures de RNA-seq, des chimères composées à leur extrémité 5' d'une séquence promotrice de L1 en antisens et à leur extrémité 3' d'une séquence unique du génome. Ces chimères peuvent alors potentiellement correspondre à des transcrits chimères initiés à partir d'ASP de L1.

13 gliomes et 3 tissus contrôles cérébraux ont été étudiés et plus de 3000 chimères ont été identifiées. La plupart d'entre elles sont exprimées dans les tumeurs et 75% impliquent des sous-familles récentes de L1, dans lesquelles l'ASP a été décrit. Des expériences de validation, réalisées sur un groupe de chimères dans une cohorte plus grande de gliomes, démontrent que l'approche utilisée est suffisamment sensible pour détecter des chimères faiblement exprimées et que 70% des chimères impliquant un élément L1 récent présentent une initiation de leur transcription à l'ASP. Par contre, alors qu'une expression tumeur spécifique était attendue d'après les résultats de RNA-seq, toutes les chimères sont retrouvées exprimées à un faible niveau dans les tissus contrôles en RT-qPCR. Ceci suggère une transcription basale à partir de l'ASP dans les tissus normaux.

Des analyses complémentaires doivent être réalisées 1) pour établir s'il existe une corrélation entre le niveau d'expression des chimères initiées à l'ASP et le niveau de méthylation des éléments L1, 2) pour établir si certaines des chimères peuvent correspondre à des biomarqueurs potentiels pour les gliomes et 3) pour évaluer si certaines des chimères peuvent jouer un rôle dans les processus tumoraux.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

**#3579 : Apport du séquençage nouvelle génération d'un panel de 9 gènes pour le diagnostic étiologique des neurodégénérescences par accumulation intracérébrale en fer.**

### Auteurs :

Patricia Fergelot (1), Ugo Carrere (2), Sebastien Moutton (2), Julie Deforges (2), Claudio Plaisant (2), Guenaelle Delmotte (2), Domitille Gras (3), Benoit Arveiler (1), Lydie Burglen (4), Cyril Goizet (1)

1. génétique médicale, laboratoire MRGM, CHU de Bordeaux, Université de Bordeaux, Bordeaux, France
2. génétique médicale, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France
3. Neuropédiatrie, Hôpital Robert Debré, Paris, France
4. Génétique, Hôpital Trousseau, Paris, France

**Mots clefs :** NBIA, Fer, FA2H, C19orf12, NGS

### Résumé :

La découverte de nouveaux gènes responsables de différentes formes de neurodégénérescences par accumulation intracérébrale en fer (NBIA), parallèlement à la mise en place du séquençage nouvelle génération dans les laboratoires de diagnostic moléculaire, font du diagnostic moléculaire de ces pathologies neurodégénératives un sujet d'actualité pour les neurologues, les neuropédiatres et les généticiens. En effet même si leur présentation peut être typique, il est souvent difficile d'orienter cliniquement le diagnostic moléculaire vers l'une ou l'autre des NBIA connues actuellement, alors même que leur début est souvent précoce, entraînant une errance diagnostique. Seul le séquençage des gènes *FTL*, *PANK2* et *PLA2G6* était proposé en France. Nous avons validé au CHU de Bordeaux une stratégie NGS consistant à séquencer 9 gènes impliqués dans les NBIA afin de permettre d'explorer plus rapidement les pistes génétiques devant un tableau clinique et radiologique évocateur.

Nous rapportons ici deux exemples de diagnostic précisé grâce à ce panel chez de jeunes patients atteints de NBIA. Chez l'un le séquençage de *WDR45* et de *PLA2G6* avait été demandé dans un 1<sup>er</sup> temps mais la séquence de *PLA2G6* n'avait révélé aucune anomalie et une relecture de l'IRM orientait plutôt vers une atteinte liée à *FA2H*, pour l'autre la présentation évoquait une neurodégénérescence associée à *PANK2* mais la recherche de mutation et de grande délétion dans ce gène étaient restées négatives. Nous avons utilisé la stratégie de séquençage nouvelle génération par multiplexage d'amplicons appliquée aux gènes *ATP13A2*, *CP*, *C19orf12*, *DCAF17*, *FA2H*, *FTL*, *PANK2*, *PLA2G6* et *WDR45*. L'ADN génomique a été amplifié à l'aide du kit AmpliSeq pour obtenir une banque d'amplicons, séquencés après une amplification clonale sur un PGM (ThermoFisher). Les données ont été analysées par la Torrent Suite (ThermoFisher) et les variants ont été caractérisés à l'aide du logiciel Alamut. Les variants d'allure pathogène ont été vérifiés par la méthode de Sanger. Le séquençage du panel a permis chez le premier patient de confirmer la responsabilité de *FA2H* et chez le second de diagnostiquer une NBIA de type 4 ou MPAN associée au gène *C19orf12*. Notre expérience montre l'intérêt d'un petit panel de gènes, rapide à analyser et peu coûteux à côté du séquençage d'exome, lorsque cette approche bénéficie du partage de l'expertise clinique et biologique au sein des filières maladies rares, pour un ensemble de pathologies dont les prévalences souvent très faibles et les formes cliniques chevauchantes retardent encore souvent le diagnostic.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

**#3580 : Implication du polymorphisme (I/D) du gène de l'ACE dans la variation d'expression clinique chez une population bêta-thalassémique homozygote**

### Auteurs :

Awatef MEJRI (1), Hajer SIALA (1), Maroua HAMLAOUI (1), Khawla RAZGHALLAH (1), Mansri MARWA (1), Sondess HADJFREDJ (1), Faïda OUALI (1), Raouf HAFSIA (2), Taieb MESSAOUD (1)

1. laboratoire de biochimie clinique- LR00SP03, Hôpital d'enfant Bechir Hamza de tunis , tunis, Tunisie
2. service d'hématologie biologique, Hôpital Aziza othmana , tunis, Tunisie

**Mots clefs :**  $\beta$ -thalassémie, Expression clinique, ACE, Polymorphisme (I/D)

### Résumé :

La  $\beta$ -thalassémie, une anémie hémolytique héréditaire, qui se manifeste sous deux formes cliniques principales: la forme grave ou de  $\beta$ -thalassémie majeure (TM) et la forme modérée ou  $\beta$ -thalassémie intermédiaire (TI).

Plusieurs études ont déjà tenté d'étudier des marqueurs susceptibles de moduler l'expression clinique de cette maladie sans expliquer totalement la variation clinique de la beta-thalassemie. À la recherche d'autres facteurs intervenant dans la variation d'expression clinique de la  $\beta$ -thalassémie, nous nous sommes proposé d'étudier le polymorphisme (I/D) du gène de l'ACE.

Le travail a porté sur 53  $\beta$ -thalassémiques homozygotes réparties en deux groupes phénotypiques distincts : 30 sujets  $\beta$ -thalassémiques majeures et 23 sujets  $\beta$ -thalassémiques intermédiaires. L'analyse du polymorphisme I / D du gène de l'ACE a été réalisée par la méthode Gap-PCR.

La comparaison des fréquences allélique entre TI et TM a révélé une association significative de l'allèle (I) au phénotype modéré de la bêta-thalassémie ( $p=10^{-3}$ ), l'allèle (I) est présente chez 73.91% des TI et 6.67% des TM. Le faible niveau d'activité plasmatique et tissulaire de l'ACE chez les TI pourrait être à l'origine d'une meilleure expression clinique de la bêta-thalassémie.

Ce travail a permis d'identifier l'implication de l'allèle (I) du polymorphisme (I/D) du gène de l'ACE dans la variation de l'expression clinique de la  $\beta$ -thalassémie. une étude approfondie des aspects cliniques des sujets  $\beta$ -thalassémiques portant le génotype [II] doit compléter ce travail.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #3581 : Place du WES dans la recherche et le diagnostic des maladies rares en population consanguine

#### Auteurs :

Olfa MESSAOUD (1), Olfa MESSAOUD (1), Mariem BEN REKAYA (1), Amira ZAROUI (2), Hager JAOUADI (1), Yosra BOUYACOUB (1), Manel JERBI (1), Majdi NAGARA (1), Nadia LAROUCI (1), Meriem JONES (3), Mohamed ZGHAL (3), Becima FAZAA (3), Mohamed Samir BOUBAKER (1), Houda YACOUB-YOUSSEF (1), Lilia ROMDHANE (1), Rym KEFI (1), Abdelhamid BARAKAT (4), Selim BEN YAHIA (5), Mourad MOKNI (6), Rachid MECHMECHE (2), Anu BASHAMBOO (7), Kenneth McELREAVEY (7), Sonia ABDELHAK (1)

1. Laboratoire de Génomique Biomédicale et Oncogénétique, Institut Pasteur de Tunis, Tunis, Tunisie
2. Service des Explorations Fonctionnelles et de Réanimations en Cardiologie, Hôpital la Rabta, Tunis, Tunisie
3. Département de Dermatologie, Hôpital Charles Nicolle, Tunis, Tunisie
4. Laboratoire de Génétique Moléculaire Humaine, Département de la Recherche Scientifique, Institut Pasteur de Casablanca, Casablanca, Maroc
5. Département d'ophtalmologie, Université de Monastir, Hôpital Universitaire Fattouma Bourguiba de Monastir, Monastir, Tunisie
6. Département de Dermatologie, Hôpital la Rabta, Tunis, Tunisie
7. Unité de Génétique du Développement Humain, Institut Pasteur de Paris, Paris, France

**Mots clefs :** maladies rares, séquençage d'exome, recherche, diagnostic

#### Résumé :

##### Introduction:

Depuis le début du 21<sup>ème</sup> cycle, un intérêt particulier a été accordé à l'étude des maladies rares. Bien que les maladies rares touchent moins d'un individu par 2000 personnes, elles représentent ensemble un problème réel de santé publique affectant plus de 8% de la population mondiale. Dans 80% des cas, ces maladies sont d'origine génétique d'où l'importance de mettre en place des centres spécialisés dans la recherche et le diagnostic de ces maladies. Le recours aux technologies à haut débit dont le Whole Exome Sequencing (WES) représente une alternative de choix. Nous rapportons ici notre expérience autour de 51 cas.

##### Méthodologie:

Les patients ayant fait l'objet de cette étude ont rempli l'un des deux critères suivants à savoir l'expression d'un phénotype extrêmement rare ou d'une maladie très hétérogène sur le plan clinique et génétique. Le premier groupe comportait essentiellement des cas sporadiques alors que le deuxième était plutôt formé de familles multiplexes et donc plus informatives. L'analyse des données et le tri des variants ont été réalisés à l'aide de l'interface fournie par la plateforme Oxford Gene Technology. Une deuxième analyse approfondie a été conduite en utilisant des canevas bioinformatiques personnalisés qui priorisent la recherche des variants délétères au niveau des régions homozygotes notamment celles partagées entre fratrie présentant le même phénotype.

##### Résultats:

Selon les résultats obtenus, nous avons identifié trois catégories de patients reflétant chacune un niveau d'efficacité du WES. La première comporte les cas pour lesquels nous avons facilement identifié les bases génétiques de la maladie puisque le variant délétère était localisé au niveau d'un gène de susceptibilité tel que pour la dysplasie arythmogène du ventricule droit, le *Xeroderma pigmentosum* et l'épidermolyse bulleuse. La deuxième catégorie comprend les cas où les résultats de l'analyse génétique ont conduit à un redressement du diagnostic clinique comme pour le syndrome de Brugada. La troisième catégorie comporte les cas dont l'interprétation était non concluante. Cette ambiguïté d'interprétation est essentiellement due au manque d'informativité des familles mais également de l'absence d'un diagnostic clinique surtout quand il s'agit d'une maladie encore inconnue.

##### Conclusion:

L'identification des bases moléculaires des maladies rares constitue l'étape cruciale pour établir le diagnostic génétique, le conseil génétique et le diagnostic prénatal et par conséquent améliorer la prise en charge des patients ainsi que leurs familles. Cependant, dans la majorité des cas, les résultats issus du WES méritent d'être explorés d'un point de vue fonctionnel afin de les valider avant de les utiliser en application clinique.

**#3582 : Etude clinique et génétique du déficit en Sérine: A propos de 3 familles tunisiennes**

**Auteurs :**

mediha trabelsi (1), Ichraf kraoua (2), elsa wiame (3), gilbert briand (4), Emile Van Schaftingen (3), naziha kaabachi (5), Ilhem Turki (6), Ridha Mrad (1)

1. Service des maladies congénitales et héréditaires, EPS Charles Nicolle, , tunis, Tunisie
2. Service de neurologie de l'enfant et de l'adolescent, institut Mongi Ben hmida de neurologie, , tunis, Tunisie
3. Christian de Duve Institute, Université Catholique de Louvain (UCL), , bruxelle, Belgique
4. Laboratory of Biochemistry and Molecular Biology, University Hospital of Lille, , lille, France
5. Service de biochimie Hopital La rabta, , tunis, Tunisie
6. Service de neurologie de l'enfant et de l'adolescent, Institut mongi ben hmida de neurologie, , tunis, Tunisie

**Mots clefs :** Déficit en 3-phosphoglycertae déshydrogénase, microcéphalie, épilepsie, mutation, conseil génétique, diagnostic prénatal

**Résumé :**

**Introduction:**

Le déficit en L-Sérine par déficit en 3-Phosphoglycerate dehydrogenase (3-PGDH) est une maladie neurométabolique rare, de transmission autosomique récessive. Elle se caractérise par la triade microcéphalie congénitale, retard psychomoteur sévère et épilepsie pharmaco-résistante. Son diagnostic est évoqué devant la baisse du taux de L-Sérine dans le plasma et le LCR et confirmé par l'analyse du gène *PHGDH*.

L'objectif de notre travail était de discuter les caractéristiques cliniques, génétiques et thérapeutiques d'une série de 4 patients présentant la forme infantile sévère du déficit en 3-PGDH.

**Méthodes :**

Etude clinique de 4 patients tunisiens, dont un cas familial, suivis au service de Neurologie de l'Enfant et de l'Adolescent à l'Institut National de Neurologie, pour déficit en 3-PGDH.

**Résultats :**

L'âge moyen de nos patients était de 11 mois et leur sex ratio était de 1. Trois de nos patients présentaient un syndrome de West classique avec une hypersarythmie à l'EEG. Tous les patients avaient une microcéphalie congénitale et un retard psychomoteur sévère. L'examen clinique a révélé une hypotonie axiale, une tétraparésie spastique et une irritabilité dans tous les cas. L'atteinte ophtalmologique était constante et l'IRM cérébrale a révélé une hypomyélinisation ainsi qu'une hypoplasie du corps calleux chez tous les patients. Un dosage quantitatif des acides aminés sur plasma et LCR était réalisé chez 2/4 patients et a montré des taux bas de Sérine et de Glycine. L'analyse du gène *PHGDH* a confirmé le diagnostic, en identifiant la mutation p.V425M à l'état homozygote chez tous les patients et a permis de donner un conseil génétique à ces familles et de réaliser un diagnostic prénatal pour deux d'entre elles. Tous les patients étaient mis sous traitement à base de Sérine et de Glycine. L'évolution était marquée par la disparition des crises épileptiques et la baisse de l'irritabilité sans effet notable sur le tonus axial, la croissance du périmètre crânien ou la spasticité.

**Conclusion :**

Le déficit en sérine est une maladie métabolique rare et traitable. Son diagnostic précoce permet d'avoir une meilleure réponse au traitement et de prévenir la récurrence de la maladie en démarrant un traitement à base de Sérine en prénatal.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #3583 : Altération du métabolisme cérébral in vivo chez des patients présentant une ataxie spinocérébelleuse de type 1,2,3 et 7 - étude longitudinale sur 2 ans

#### Auteurs :

Isaac Adanyeguh (1), Pierre-Gilles Henry (2), Gulin Oz (2), Alexis Brice (1), Alexandra Durr (3), Fanny Mochel (3)

1. INSERM UMR S1127, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France
2. Center for Magnetic Resonance Research, University of Minnesota, Minneapolis, Etats-Unis
3. Département de Génétique, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France

**Mots clefs :** Ataxie spinocérébelleuse, spectroscopie RMN cérébrale, métabolisme cérébral, biomarqueur

#### Résumé :

**Objectifs :** Les ataxies spinocérébelleuses de type 1,2,3 et 7 sont des maladies autosomiques dominantes dues à une expansion anormale de triplets CAG responsables d'une atrophie progressive du cervelet et du tronc cérébral. Les présentations cliniques associent des troubles moteurs (syndrome cérébelleux, pyramidal, extrapyramidal) et des troubles cognitifs d'installation progressive mais sévère. Nous avons rapporté l'étude du métabolisme cérébral in vivo par spectroscopie RMN cérébrale du proton au niveau de 2 régions d'intérêt, le vermis cérébelleux et le pont, au sein d'une grande cohorte de patients atteints de SCA1 (n=16), SCA2 (n=12), SCA3 (n=21), SCA7 (n=12) et de témoins (n=33) (Adanyeguh et al, Mov Dis 2015). Nous rapportons l'évolution du profil métabolique de ces patients après 2 ans.

**Méthodes :** Nous avons utilisé un protocole optimisé semi-LASER à 3 Tesla pour mesurer les concentrations de métabolites dans le vermis et pont de patients atteints de SCA1 (n = 14), SCA2 (n = 12), SCA3 (n = 20), SCA7 (n = 10) et des témoins (n = 24). Les analyses des données ont été réalisées avec LCModel. Un seuil CRLB (Cramer-Rao lower bounds) de 20 % a été utilisé pour sélectionner les métabolites quantifiés de la façon la plus fiable. Le score SARA (scale for the assessment and rating of ataxia) a été utilisé pour quantifier l'atteinte motrice des patients.

**Résultats :** Nous avons observé des profils métaboliques cérébraux assez stables chez les patients atteints de SCA1,2,3 et 7 à 2 ans d'intervalle. Ainsi, nous confirmons une baisse du N-acétylaspartate, le marqueur neuronal de référence, dans le vermis et le pont des patients. Le glutamate, un autre marqueur du métabolisme neuronal, est également diminué dans le pont des patients. A l'inverse, nous observons une augmentation du myoinositol, un marqueur astrocytaire, et de la créatine, un marqueur oligodendrocytaire, chez les patients dans les 2 régions cérébrales d'intérêt confirmant l'hypothèse d'une tentative de compensation métabolique gliale à la perte neuronale. Sur 2 ans, le score SARA s'est majoré chez les patients atteints de SCA1 (p < 0.001), SCA2 (p = 0.034) et SCA3 (p = 0.015). On observe par ailleurs une corrélation importante entre les taux de métabolites dans le vermis et le pont et le score SARA chez les patients.

**Conclusion :** L'absence de modification quantifiable sur 2 ans du profil métabolique dans deux régions cérébrales d'intérêt chez des patients avec ataxie spinocérébelleuse, dont l'atteinte motrice s'aggrave durant ce même intervalle, est surprenante. Il est possible que les modifications métaboliques les plus importantes se mettent en place au stade débutant de la maladie, voire durant la phase présymptomatique, comme le suggèrent des données préliminaires. Il serait donc intéressant de réaliser la même étude chez des individus SCA présymptomatiques afin de mieux comprendre la cinétique des altérations métaboliques dans ce groupe de maladies.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

**#3585 : Posterior microphthalmia and nanophthalmia in Tunisia caused by a founder c.1059\_1066insC mutation of the PRSS56 gene**

### Auteurs :

Mariam BEN SAID (1), Ebtissem Chouchène (2), Salma Ben Salem (3), Walid Bouassida (4), Peter Soderkvist (5), Leila Matri (6), Mounira Hmani (7)

1. Laboratoire de microorganismes et biomolécules, , Centre de Biotechnologie de Sfax, Tunisia, Sfax, France
2. Service d'ophtalmologie, Institut Hedi Raies d'ophtalmologie de Tunis, Tunisia, Sfax, Tadjikistan
3. Laboratoire de microorganismes et biomolécules, , Centre de Biotechnologie de Sfax, Tunisia, Sfax, Tunisia
4. Service d'Ophtalmologie,, C.H.U. H. Bourguiba de Sfax, Tunisia, Sfax, France
5. Division of Cell Biology, Department of Clinical and Experimental Medicine, , Faculty of Health Sciences, Linköping, Sweden, Linköping,
6. Service d'Ophtalmologie,, Institut Hedi Raies d'ophtalmologie de Tunis, Tunisia, Tunis, Tunisie
7. Département des sciences de la vie, Faculté des sciences de Sfax, Tunisia, Sfax, Tunisie

**Mots clefs :** Founder effect, Microarray, Microphthalmia, Nanophthalmia, PRSS56, Tunisia

### Résumé :

Congenital microphthalmia (CMIC) is a common developmental ocular disorder characterized by a small, and sometimes malformed, eye. Posterior microphthalmia (PM) and nanophthalmia are two rare subtypes of isolated CMIC characterized by extreme hyperopia due to short axial length and elevated lens/eye volume ratio. While nanophthalmia is associated with a reduced size in both anterior and posterior segments, PM involves a normal size anterior chamber but a small posterior segment. Several genes encoding transcription and non-transcription regulators have been identified in different forms of CMIC. MFRP gene mutations have, for instance, been associated with nanophthalmia, and mutations in the recently identified PRSS56 gene have been linked to PM. So far, these two forms of CMIC have been associated with 9 mutations in PRSS56. Of particular interest, a c.1059\_1066insC mutation has recently been reported in four Tunisian families with isolated PM and one Tunisian family with Nanophthalmia. Here, we performed a genome-wide scan using a high density single nucleotide polymorphism (SNP) array 50 K in a large consanguineous Tunisian family (PM7) affected with PM and identify the same causative disease mutation. A total of 24 polymorphic markers spanning the PRSS56 gene in 6 families originating from different regions of Tunisia were analyzed to investigate the origin of the c.1059\_1066insC mutation and to determine whether it arose in a common ancestor. A highly significant disease-associated haplotype, spanning across the 146 Kb of the 2q37.1 chromosome, was conserved in those families, suggesting that c.1059\_1066insC arose from a common founder. The age of the mutation in this haplotype was estimated to be around 1850 years. The identification of such 'founder effects' may greatly simplify diagnostic genetic screening and lead to better prognostic counseling

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #3587 : Segregation of S292F TPO gene mutation in three large Tunisian families with thyroid dysmorphogenesis: evidence of a founder effect

#### Auteurs :

Noura BOUGACHA (1), Nadia Charfi (2), Houda Bouhajja (1), Neila Belguith (3), Nabil Miled (4), Mouna Mnif (2), Jorge paula (5), Nessrine Chikhrouhou (2), Hammadi Ayadi (6), Mongia Hachicha (7), Mohamed Abid (2)

1. Département des Sciences de la Vie, Faculté des Sciences de Sfax, Sfax, Tunisie
2. Service d'Endocrinologie, CHU Hédi Chaker, Sfax, TUNISIA, Sfax, Tunisie
3. Laboratoire de Génétique Moléculaire Humaine, Faculté de Médecine de Sfax, Sfax, Tunisie
4. Laboratoire de Biochimie et de Génie Enzymatique des Lipases, Ecole d'Ingenieurs de Sfax, Sfax, Tunisie
5. Unidade de Genética Molecular, Centro de Genética Médica Doutor Jacinto Magalhães, , Centro Hospitalar do Porto, Porto, Portugal, Porto, Portugal
6. Centre de Biotechnologie, centre de Biotechnologie de Sfax, Sfax, Tunisie
7. Service de Pédiatrie, CHU Hédi Chaker, Sfax, TUNISIA, Sfax, Tunisie

**Mots clefs :** thyroid dysmorphogenesis, TPO, mutation, founder effect, structural modelling

#### Résumé :

In this study, we aimed to identify causal mutation(s) in 13 patients with thyroid dysmorphogenesis from 3 consanguineous Tunisian families. A 12-year clinical follow up showed a phenotypic variability ranging from presence or not of goiter, sensorineural deafness, and mental retardation. Genetic analysis using microsatellite markers within 2 candidate genes (*TPO* and *PDS*) gave evidence of linkage with *TPO* gene. Sequencing of its 17exons and their flanking intron-exon junctions revealed the previously described c.875C > T (p.S292F) mutation located in exon8. No additional mutations were found in either a 900bp of *TPO* gene promoter or *PDS* gene. In silico analysis showed that p.S292F mutation might reduce the catalytic cavity of the TPO which would restrict access of a potential substrate to the catalytic pocket. Using 4SNPs and one microsatellite marker in the *TPO* gene, an associated haplotype: G-C-G-G-214 was found, giving evidence of a founder mutation. **Conclusion:** This first description of thyroid dysmorphogenesis causing mutation in Tunisia may help to develop a genetic screening protocol for CH in the studied region. Although structural modeling suggested a pathogenic effect of this mutation, functional studies are needed. Additional causing and/or modifier genes, together with late diagnosis could explain clinical variability observed in our patients.

## BASES MOLÉCULAIRES DES PATHOLOGIES

### #3607 : Caractérisation dynamique du métabolisme énergétique cérébral chez des patients atteints de maladie de Huntington

#### Auteurs :

Fanny Mochel (1), Isaac Adanyeguh (2), Pierre-Gilles Henry (3), Marie-Lorraine Monin (1), Alexandra Durr (1)

1. Département de Génétique, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France
2. INSERM UMR S1127, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France
3. Center for Magnetic Resonance Research, University of Minnesota, Minneapolis, Etats-Unis

#### Résumé :

**Objectifs :** Nous avons mis en évidence par le biais d'études précliniques et cliniques l'importance des dysfonctions métaboliques énergétiques dans la maladie de Huntington. En utilisant la spectroscopie RMN cérébrale (SRM) au phosphore 31, nous avons notamment mis en évidence un profil d'activation cérébral anormal chez des patients atteints de la maladie de Huntington comparativement à des témoins, se traduisant par une absence d'augmentation du rapport entre phosphate inorganique (Pi) et phosphocréatine (PCr) pendant une stimulation du cortex visuel (Mochel et al, Mov Dis 2012). Afin de mieux comprendre ces anomalies, nous avons utilisé une méthode de transfert d'aimantation permettant d'étudier la vitesse de réaction enzymatique de la créatine kinase (CK). Nous avons couplé cette étude à une analyse par SRM du proton afin de mesurer les concentrations de métabolites d'intérêt dans le cortex visuel et le striatum chez des patients à un stade débutant de la maladie de Huntington.

**Méthodes :** Nous avons inclus 10 patients atteints de maladie de Huntington ayant un score moteur UHDRS (unified Huntington disease rating scale) de  $15 \pm 11$  et 10 témoins de même sexe et âge. Le vitesse de réaction de la CK a été mesurée en utilisant une méthode de transfert d'aimantation au phosphore 31 (31P MT) avant (repos), pendant (activation) et après (récupération) stimulation du cortex occipital. Une IRM 3D pondérée en T1 a été réalisée pour le positionnement du voxel pour la SRM du proton – protocole optimisé semi-LASER – et des mesures volumétriques cérébrales dans le cortex visuel et le striatum.

**Résultats :** La vitesse de réaction de la CK était similaire chez les témoins et les patients pendant les phases de repos et de récupération. Lors de la stimulation visuelle, la vitesse de réaction de la CK était augmenté chez les témoins ( $k = 0,326 \pm 0,041 \text{ s}^{-1}$ ) par rapport aux patients ( $k = 0,296 \pm 0,027 \text{ s}^{-1}$ ) ( $p=0,070$ ). Par ailleurs, les concentrations de créatine totale (tCr) dans le cortex visuel étaient plus élevées chez les patients que les témoins ( $p = 0,032$ ). Dans le striatum, nous avons observé une diminution de *N*- acétylaspartate ( $p = 0,001$ ) et glutamate (Glu) ( $p = 0,001$ ) chez les patients, témoin d'une perte neuronale. Nous n'avons pas observé de corrélation entre les métabolites, l'UHDRS et le nombre de CAG.

**Conclusion :** L'étude par transfert d'aimantation confirme une altération fonctionnelle du métabolisme énergétique cérébral chez les patients atteints de maladie de Huntington. L'absence d'augmentation d'activité de la CK pendant l'activation cérébrale pourrait ainsi expliquer les anomalies du rapport Pi/PCr précédemment rapportées dans la maladie.

**Auteurs :**

Henriette Poaty Poaty (1), Isabelle Soubeyran (2), Charles Gombé Mbalawa (3), Chandra Aba Gandzion (1), Henriette Poaty (4)

1. Laboratoire d'Histologie-Embryologie et de Génétique , Faculté des Sciences de la Santé, Université Marien Ngouabi, Brazzaville , Congo
2. Unité d'Anatomie Pathologique, Institut du Cancer Bergonié, Bordeaux, France
3. Service de Cancérologie , CHU Brazzaville , Brazzaville , Congo
4. Laboratoire d'Histologie-Embryologie et de Génétique , Faculté des Sciences de la Santé, Université Marien Ngouabi, Bordeaux, Congo

**Résumé :**

**Objectif.**

Le but de cette étude était de rechercher le syndrome de Lynch (SL) comme étant une des principales causes du cancer colorectal (CCR) héréditaire chez des jeunes sujets congolais, atteints de CCR, et de définir les moyens de diagnostic à Brazzaville.

**Patients et Méthodes.**

Nous avons réalisé (sur une période de 8 ans) une étude transversale de 34 patients souffrant d'un CCR avec une histoire familiale. Les malades ont été au préalable sélectionnés au sein de 89 CCR tout venant, à partir des critères directifs de Bethesda associés à un arbre généalogique typique. L'altération des gènes mismatch repair (MMR) a été recherchée par la technique d'immunohistochimie (IHC).

**Résultats.**

Nous avons identifié à partir des critères cliniques de Bethesda, 34/89 patients (soit 38,4 % de tout les CCR) avec un âge moyen de 40 ans et une prédominance masculine. Cependant, l'IHC a révélé une immunodéficiência des gènes MMR dans 5 cas soit 14,7 % des CCR familiaux et soit 5,6% des malades affectés par le SL avec un âge moyen de 35 ans.

**Conclusion**

La fréquence du SL trouvée dans notre étude est comparable à celle rapportée dans les pays du nord. Les critères de Bethesda associés au pedigree et l'IHC devraient constituer à Brazzaville une méthode accessible et fiable pour le diagnostic positif du SL en pratique hospitalière courante.

**Mots clés:** Syndrome de Lynch, Cancer colorectal héréditaire, Gènes mismatch repair, Critères de Bethesda, Immunohistochimie.

---

# POSTERS

CONSEIL GÉNÉTIQUE, ÉTHIQUE ET PSYCHOLOGIE

---

## CONSEIL GÉNÉTIQUE, ÉTHIQUE ET PSYCHOLOGIE

### #2328 : L'acceptabilité de l'annonce de la découverte d'une anomalie génétique non sollicitée : approche psychologique

#### Auteurs :

Marion Rosier (1), Myriam Guedj (1), Maria Teresa Muñoz Sastre (1), Patrick Calvas (2), Sophie Julia (3), Anne Cambon-Thomsen (3)

1. URI Octogone - EA4156, laboratoire CERPP, Université Toulouse II - Jean Jaurès, Toulouse, France

2. Département de génétique médicale, INSERM U563, Hôpital Purpan, Toulouse, France

3. U1027, UMR Inserm, Université Toulouse III - Paul Sabatier, Toulouse, France

**Mots clefs :** génétique médicale, annonce, anomalies non sollicitées, test génétique

#### Résumé :

La révolution de ces dix dernières années et le développement des nouvelles techniques de séquençage à haut débit de l'ADN (les NGS). Ces technologies permettent d'explorer le génome en partie ou dans sa globalité. Le transfert de ces nouvelles méthodes dans le domaine du soin améliore le diagnostic des maladies génétiques.

Au cours de ces tests, il est possible de découvrir des anomalies génétiques non sollicitées, c'est-à-dire qui ne constituent pas le but primaire du test de séquençage. Dans ces conditions, le médecin détermine au cas par cas s'il va transmettre ou non l'information au patient. Il existe des facteurs influençant le choix de révéler ou non une anomalie génétique non sollicitée tels que la curabilité de la pathologie mise en évidence, la pathogénicité du variant mis en évidence, l'âge d'apparition de la maladie, le fait que le patient soit majeur ou mineur, le fait que la découverte ne concerne pas directement le patient mais un membre de sa famille (porteur sain, par exemple). La révélation de l'annonce peut entraîner des répercussions psychologiques chez le patient.

L'objectif de notre étude en psychologie est de mettre en évidence le(s) facteur(s) considéré(s) comme le(s) plus important(s) dans le fait d'annoncer ou non la découverte fortuite d'une anomalie génétique chez les professionnels de santé, les patients et les personnes issues de la population générale. Il s'agit ici de présenter la phase exploratoire de notre recherche.

Deux jeux de 36 scénarios, construits sur la base de la Théorie Fonctionnelle de la Cognition (Anderson, 1981), seront proposés à 450 participants. Différents facteurs ont été utilisés pour construire ces scénarios : l'information et le consentement liés à la possibilité de découvrir des anomalies génétiques non sollicitées (le patient n'a pas vraiment été informé vs a été explicitement informé et n'est pas d'accord pour qu'on lui communique ces informations vs a été très explicitement informé et consent également à ce qu'on lui communique ces informations), la pathologie dont la prédisposition/vulnérabilité a été révélée par le test (quatre pathologies variant en fonction de leur prévention et de leur curabilité) et la décision du médecin de restituer l'information au patient (ne rien dire concernant les autres informations non sollicitées vs ne dire qu'une partie des informations non sollicitées vs dire toutes les informations non sollicitées). Les jeux de scénarios varieront en fonction de la pénétrance des pathologies présentées (multifactorielles vs monogéniques). Les participants devront juger, sur une échelle en 11 points, si la décision du médecin-conseil leur semble appropriée.

Cette étude permettra d'éclairer l'organisation des consultations et la production de l'information à donner aux patients. Les résultats obtenus pourront également contribuer à la rédaction de lignes directrices et leur mise en application pourra être utile dans la pratique quotidienne de la génétique médicale.

## CONSEIL GÉNÉTIQUE, ÉTHIQUE ET PSYCHOLOGIE

### #2385 : Implications éthiques des découvertes fortuites de caractéristiques génétiques en CGH-array prescrite dans la pratique clinique

#### Auteurs :

Mathilde Lefebvre (1), Damien Sanlaville (2), Nathalie Marle (3), Christel Thauvin-Robinet (1), Elodie Gautier (1), Salima El Chehadah (4), Anne-Laure Mosca-Boiron (3), Julien Thevenon (1), Patrick Edery (5), Marie-Pierre Alex-Cordier (6), Marianne Till (5), Stanislas Lyonnet (7), Valérie Cormier-Daire (8), Jeanne Amiel (7), Serge Romana (9), Valérie Malan (10), Sandrine Marlin (11), Alexandra Afenjar (12), Sandrine Chantot-Bastarud (13), Pierre Bitoun (14), Benedicte Heron (15), Eva Piparas (16), Fanny Morice Picard (17), Sebastien Moutton (17), Nicolas Chassaing (18), Adeline Vigouroux-Castera (19), James Lespinasse (20), Sylvie Manouvrier-Hanu (21), Odile Boute-Benejean (21), Catherine Vincent-Delormes (22), Florence Petit (21), Nathalie Le Meur (23), Michèle Martin-Dramard (24), Anne-Marie Guerrot (25), Alice Goldenberg (26), Sylvia Redon (27), Claude Ferrec (27), Sylvie Odent (28), Cedric Le Caignec (29), Sandra Mercier (30), Brigitte Gilbert-Dussardier (31), Annick Toutain (32), Stephanie Arpin (32), Sophie Blesson (32), Isabelle Mortemousque (32), Elise Schaefer (4), Dominique Martin-Coignard (33), Nicole Philip (34), sabine sigaudy (35), Tiffany Busa (35), Chantal Missirian (36), Fabienne Guiliano (37), Houda Karmous Benailly (38), Philippe Khau Van Kien (39), Bruno Leheup (40), Claire Benneteau (41), Lambert Laetitia (40), Paul Kuentz (42), Irène françois-purssell (43), elodie cretin (44), patrick callier (45), Sophie Julia (18), Laurence Faivre (1)

1. Service de Génétique Médicale, CHU Dijon, Dijon, France
2. Service de Cytogénétique, CHU de Lyon, Lyon, France
3. Service de Cytogénétique, CHU Dijon, Dijon, France
4. Service de Génétique Médicale, CHU de Strasbourg, Strasbourg, France
5. Service de Génétique Médicale, CHU de Lyon, Lyon, France
6. Service de Génétique Médicale, CHU de Lyon, Lyon, France
7. Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU Paris - Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
8. Institut de Recherche Necker Enfants Malades, CHU Paris - Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
9. Service de Cytogénétique, CHU Paris - Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
10. Service de Cytogénétique, CHU Paris - Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
11. Service de Génétique Médicale, CHU Paris - Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
12. Service d'histologie, embryologie et cytogénétique, CHU Paris - Hopital Trousseau, Paris, France
13. Service de Génétique Médicale, CHU Paris - Hopital Trousseau, Paris, France
14. Service de pédiatrie, CHU Paris Seine-Saint-Denis - Hôpital Jean Verdier, Bondy, France
15. Service de pédiatrie, CHU Paris Est - Hôpital d'Enfants Armand-Trousseau, Paris, France
16. Service de Cytogénétique, CHU Paris Seine-Saint-Denis - Hôpital Jean Verdier, Bondy, France
17. Service de Génétique Médicale, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France
18. Service de Génétique Médicale, Hôpital PURPAN, Toulouse, France
19. Service de Génétique Médicale, Hôpital PURPAN, Toulouse, France
20. Service de Génétique Médicale, CH Chambéry, Chambéry, France
21. Service de Génétique Médicale, CHRU de Lille - Hôpital Jeanne de Flandre, Lille, France
22. Service de Génétique Médicale, CHRU de Lille - Hôpital Jeanne de Flandre, Lille, France
23. Service de Cytogénétique, EFS Normandie, Bois Guillaume, France
24. Service de Génétique Médicale, CHU Amiens, Amiens, France
25. Service de Génétique Médicale, CHU Rouen, Rouen, France
26. Service de Génétique Médicale, CHU de Rouen - Hôpital Charles Nicolle, Rouen, France
27. Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU Brest, Brest, France
28. Service de Génétique Médicale, CHU de Rennes, Rennes, France
29. Service de Cytogénétique, CHU de Nantes, Nantes, France
30. Service de Cytogénétique, CHU de Nantes, Nantes, France
31. Service de Génétique Médicale, CHU Poitiers, Poitiers, France
32. Service de Génétique Médicale, CHU de Tours, Tours, France
33. Service de Génétique Médicale, CH Le Mans, Le Mans, France
34. Service de Génétique Médicale, CHU Marseille, Marseille, France
35. Service de Génétique Médicale, CHU Marseille, Marseille, France
36. Service de Cytogénétique, CHU Marseille, Marseille, France
37. Service de Génétique Médicale, CHU de Nice, Nice, France
38. Service de Cytogénétique, CHU de Nice, Nice, France
39. Service de Génétique Médicale, CH de Nîmes, Nîmes, France
40. Service de Génétique Médicale, CHU de Nancy, Nancy, France

41. Service de Cytogénétique, CHU de Nancy, Nancy, France
42. Service de Cytogénétique, CHU de Besançon, Besançon, France
43. Service de médecine Légale, CHU Dijon, Dijon, France
44. FHU-translad, université de Franche-Comté, Besançon, France
45. Service de Cytogénétique, CHU Dijon, Dijon, France

**Mots clefs :** CGH-array, découvertes fortuites, éthique

**Résumé :**

La CGH-array est utilisée en pratique courante pour le diagnostic étiologique de patients présentant des troubles cognitifs associés ou non à une/des malformation(s). La CGH-array recherchant des réarrangements dans tout le génome d'un individu, il existe un risque d'être confronté à une découverte fortuite (DF), définie par la mise en évidence d'un résultat génétique qui ne répond pas à la question du bilan étiologique d'un individu, mais dont les résultats pourraient avoir un impact immédiat ou à distance sur la santé de cet individu ou de sa famille. Afin d'anticiper les questions éthiques secondaires aux DF compte tenu de la généralisation des nouvelles technologies d'analyse du génome en génétique, nous avons interrogé par le biais d'un questionnaire les généticiens cliniciens membre de l'Association Française des Généticiens Cliniciens, et les cytogénéticiens membres du réseau Achropuce sur leur expérience en terme de DF en CGH-array depuis l'implantation de ses techniques, soit une période de 7 ans environ. Nous avons collecté des données provenant de l'ensemble des CHU Français, mais 55% des praticiens. 65 DF ont été signalées, 7 correspondant à des pathologies autosomiques dominantes à pénétrance complète, 40 à des pathologies autosomiques dominantes à pénétrance incomplète, 4 à un statut hétérozygote pour une pathologie autosomique récessive et 14 à des pathologies liées à l'X (12 chez des filles, 2 chez des garçons). La pathogénécité était incertaine dans 20% des cas. Dans 17% des cas, la DF faisait partie d'un CNV expliquant la pathologie de la personne testée. Seulement 4 (6.1%) des DF n'ont intentionnellement pas été rendues aux patients (*TTBK2*, *SETX*, *PARK4* et *PMP22*). Il s'agissait de la mise en évidence d'un risque de développer une pathologie incurable pour laquelle il n'existait pas de prévention, et de pathogénécité incertaine pour les 3 premières. Les cliniciens rapportent des difficultés au moment du rendu des résultats dans 29% des cas, principalement pour prédire l'expression phénotypique de la pathologie chez ces patients asymptomatiques (9/65). L'annonce aux familles a également été difficile, tant pour la compréhension des implications des DF de la part des parents (6/65) que sur le plan psychologique (4/65). Ces résultats peuvent être en partie expliqués par la non-anticipation de la question des DF puisque seulement 48% des cliniciens utilisaient des consentements mentionnant le risque de DF.

Dans le contexte de l'émergence des nouvelles technologies de séquençage haut débit (NGS) dans le champ du diagnostic, ces expériences nationales vont être importantes, et vont permettre d'avancer dans la réflexion éthique dans ce domaine.

## CONSEIL GÉNÉTIQUE, ÉTHIQUE ET PSYCHOLOGIE

### #2437 : Evaluation du recours au dépistage en cascade dans les familles de patients atteints de mucoviscidose.

#### Auteurs :

Ingrid Duguépéroux (1), Carine L'Hostis (1), Marie-Pierre Audrézet (2), Gilles Rault (3), Irène Frachon (4), Rémy Bernard (5), Philippe Parent (6), Martine Blayau (7), Sébastien Schmitt (8), Emmanuelle Genin (1), Claude Férec (1), Virginie Scotet (1)

1. Inserm, UMR 1078, Brest, France
2. Laboratoire de génétique moléculaire, CHU, Brest, France
3. , CRCM, Roscoff, France
4. Service de médecine interne et de pneumologie, CHU, Brest, France
5. Service de pneumologie, CH, Quimper, France
6. Service de pédiatrie et de génétique médicale, CHU, Brest, France
7. Laboratoire de génétique moléculaire, CHU, Rennes, France
8. Laboratoire de génétique moléculaire, CHU, Nantes, France

**Mots clefs :** Mucoviscidose, gène *CFTR*, dépistage en cascade, conseil génétique.

#### Résumé :

La mucoviscidose est une maladie autosomale récessive liée au gène *CFTR*. En l'absence de thérapie mutation-spécifique pour tous les patients, le dépistage en cascade au sein des familles reste un outil de prévention qui permet aux apparentés de connaître leur statut vis-à-vis de la mutation familiale. Sa finalité est de pouvoir rassurer les personnes retrouvées non porteuses et de repérer précocement de nouveaux couples à risque de ¼, qui pourront alors faire des choix éclairés quant à leur projet parental. Une étude australienne a montré que ce test serait sous-utilisé. L'objectif de notre étude était donc d'évaluer le taux de recours au dépistage en cascade dans une région française où la mucoviscidose est fréquente, mais également d'identifier les facteurs favorisant la réalisation du test et d'évaluer l'impact de ce test en matière de santé publique.

L'étude a été menée à partir de 40 familles de patients nés dans le département du Finistère. Les investigations comprenaient la réalisation d'un arbre généalogique et le recueil des études du gène *CFTR* réalisées dans ces familles dans l'un des laboratoires de génétique bretons. L'analyse statistique a été réalisée via la méthode GEE afin d'ajuster sur l'effet famille.

Parmi les 459 apparentés éligibles au test recensés, 185 ont choisi de se faire tester, ce qui correspond à un taux de recours au test de 40,7 % (IC<sub>95%</sub> : [34,1 % - 47,3 %]). La régression logistique a montré que les principaux facteurs favorisant la réalisation du test étaient le fait d'être une femme (OR=1,52, IC<sub>95%</sub> : [1,04 - 2,23], p=0,031) et le fait d'avoir un risque *a priori* élevé d'être porteur. Ainsi, par rapport aux apparentés ayant un risque *a priori* de 1/4 (cousins), le taux de recours était 30,1 fois plus élevé chez ceux ayant un risque de 2/3 (fratrie, p < 0,001), et 3,6 fois plus élevé chez ceux ayant un risque de 1/2 (oncles/tantes et grands-parents, p=0,005). L'existence d'un projet parental ou d'une grossesse était aussi un élément clé dans la décision de se faire tester (38,4 % des apparentés testés). Enfin, en termes de santé publique, le dépistage en cascade a permis : 1°) de rassurer plus du quart des apparentés (retrouvés non porteurs de la mutation familiale, n=247), ainsi que 60 couples (chez lesquels l'analyse a montré que les apparentés étaient porteurs, mais pas leurs conjoints), 2°) et de repérer précocement 5 nouveaux couples à risque de ¼, qui ont pu recourir au diagnostic prénatal.

Cette étude a évalué, pour la première fois en Europe, le recours au dépistage en cascade dans les familles touchées par la mucoviscidose et a montré que ce test était particulièrement utilisé dans notre région. Ce travail souligne l'importance de la diffusion de l'information génétique au sein des familles et fournit des informations essentielles sur les facteurs conduisant à choisir de se faire tester (certains d'entre eux étant probablement communs à tous les tests génétiques).

Financement : Association Vaincre La Mucoviscidose.

## CONSEIL GÉNÉTIQUE, ÉTHIQUE ET PSYCHOLOGIE

### #2584 : Evaluation des pratiques professionnelles (EPP): Perception de l'entretien psychologique systématique dans le cadre du diagnostic pré-symptomatique du point de vue des patients

#### Auteurs :

Caroline Jacquot (1), Amandine Baurand (1), Lorraine Joly (1), Elodie Gautier (1), Geoffrey Bertolone (1), Christel Thauvin (1), Laurence Faivre (1)

1. Centre de génétique, CHU Dijon, Dijon, France

**Mots clefs :** Diagnostic pré-symptomatique, entretien psychologique, prédisposition génétique aux cancers, maladies cardiaques héréditaires, maladies génétiques neuromusculaires, évaluation des pratiques professionnelles

#### Résumé :

L'identification croissante des bases moléculaires de prédispositions génétiques aux cancers, aux maladies cardiaques héréditaires, aux maladies neuromusculaires à révélation tardive, et autres groupes de pathologies répondant à un mode d'hérédité autosomique dominant, et pour lesquels des mesures de surveillance ou de prévention sont envisageables, conduit à une augmentation des demandes de diagnostic pré-symptomatique (DPS). La démarche de DPS doit être conduite selon le cadre légal au sein d'une équipe pluridisciplinaire de génétique, et chaque équipe a défini un protocole. Un ou plusieurs entretiens psychologiques ou psychiatriques sont obligatoires dans la prise en charge des DPS des maladies à révélation tardive, mais optionnels dans les autres groupes de pathologies. Le centre de génétique du CHU de Dijon a fait le choix d'inclure systématiquement un entretien psychologique à ce protocole, entre la consultation d'information auprès du généticien ou du conseiller en génétique, et la consultation d'annonce du résultat. Néanmoins, l'augmentation du nombre des DPS et les interrogations de certains patients sur le caractère systématique de cet entretien, nous ont menés à évaluer la perception de cet entretien psychologique systématique de la part des patients dans le cadre d'une évaluation des pratiques professionnelles. Dans ce but, à partir de Février 2014, deux questionnaires anonymisés ont été remplis par les patients majeurs volontaires, le premier à l'issue de la consultation d'information, et le second rempli à domicile après l'entretien psychologique. 68 patients ont participé à ce jour, avec une majorité de patients adressés pour DPS suite à l'identification d'une mutation BRCA dans la famille (65 %). Les autres pathologies concernées étaient d'autres prédispositions génétiques au cancer (22%), des pathologies neurogénétiques (7%) ou cardiogénétiques (6%). Dans 47% des cas, le patient avait été informé par sa famille que la démarche de DPS comprenait un entretien psychologique. Dans 12% des cas, l'entretien psychologique a été discuté d'emblée par le patient. Avant l'entretien psychologique, 15% des répondants jugent cet entretien indispensable, 42% utile, 42% sans intérêt. Toutes les personnes qui jugeaient cet entretien indispensable avant la consultation mentionnent le même avis après l'entretien. Par contre, 45% des personnes qui n'estimaient pas cet entretien utile pour eux avant l'entretien l'ont jugé utile après en avoir bénéficié. L'intérêt principal mentionné était de parler de la maladie, de la démarche du test et l'anticipation des résultats. Certains patients ont mentionné que cet entretien pourrait être plus utile systématiquement après la consultation de rendu des résultats. Compte tenu du nombre significatif de patients jugeant l'entretien psychologique utile alors qu'ils ne l'avaient pas anticipé, cette étude renforce l'intérêt du caractère systématique d'un entretien psychologique dans le cadre des démarches de DPS.

## CONSEIL GÉNÉTIQUE, ÉTHIQUE ET PSYCHOLOGIE

**#2640 : Compte-rendu de 11 années de diagnostic moléculaire de la maladie de Huntington à Marseille et focus sur les allèles dits « intermédiaires » : quels résultats rendre ? Quel conseil génétique ?**

### Auteurs :

Christophe Pécheux (1), Karine Nguyen (2), Nicole Philip (2), Nicolas Lévy (2), Rafaëlle BERNARD (2)

1. Département de Génétique Médicale, Assistance Publique-Hôpitaux de Marseille, Marseille, France  
2. Département de Génétique Médicale, INSERM GMGF UMR\_S910, Assistance Publique-Hôpitaux de Marseille, Aix-Marseille Université, Marseille, France

**Mots clefs :** Maladie de Huntington, diagnostic moléculaire, allèles intermédiaires, conseil génétique

### Résumé :

La maladie de Huntington est une pathologie neurodégénérative autosomique dominante causée par une expansion du trinuécléotide CAG supérieure ou égale à 36 dans l'exon 1 du gène HD1. Il existe une corrélation négative entre le nombre de répétitions et l'âge d'apparition de la pathologie. Les allèles normaux comportant de 9 à 26 répétitions CAG sont stables, les allèles dits « intermédiaires » comportant entre 27 et 35 CAG seraient instables à la méiose et constitueraient un réservoir de néo-mutations, et les allèles mutés entre 36 et 39 CAG ont une pénétrance réduite. Notre laboratoire rassemble les demandes de diagnostic moléculaire prescrites dans un large sud-est français. De 2003 à 2014, 941 génotypes ont été établis dont 592 demandes de confirmation diagnostique, 308 diagnostics pré-symptomatiques, 21 diagnostics prénatals. 703 génotypages ont concerné des cas sporadiques, et 238 des cas familiaux (au moins deux personnes testées dans 90 familles). Ces derniers ont permis d'étudier la stabilité de la transmission de la répétition sur 48 méioses d'allèles normaux et 43 méioses d'allèles pathologiques. En accord avec d'autres études, l'allèle normal le plus fréquent compte 17 CAG. Parmi les 1454 allèles normaux, il n'y a pas d'allèle comptant 13 CAG. Nous discutons cette anomalie déjà décrite dans la cohorte du diagnostic HD d'un autre laboratoire français. Par ailleurs, 55 allèles intermédiaires entre 27 et 35 CAG ont été retrouvés (3,8 % des allèles normaux). Un allèle à 35 CAG a été détecté chez une patiente souffrant de troubles de la marche et du comportement. L'allèle muté le plus fréquent de la cohorte porte 41 CAG. Aucune forme juvénile de la maladie n'est décrite dans cette série. Une patiente symptomatique s'est révélée hétérozygote composite à 36 et 41 CAG. Une parfaite stabilité du nombre de CAG a été établie lors des 48 méioses d'allèles normaux, même pour les 4 allèles intermédiaires entre 27 et 32 CAG. Le criblage des 43 méioses d'allèles mutés confirme une meilleure stabilité des allèles HD quand ils sont transmis par la mère, et le phénomène d'anticipation par transmission paternelle. Néanmoins 28 % des méioses paternelles se sont accompagnées d'une décréue du nombre de CAG, et dans les méioses maternelles une élévation de CAG pouvant aller jusqu'à 4 triplets a aussi pu être observée. Enfin, l'absence de néo-mutation avérée et la stabilité observée des allèles intermédiaires nous invitent à discuter l'utilité de les signaler systématiquement comme potentiellement instables. En effet, ce risque qui semble très faible est à mettre en balance avec l'inquiétude des familles concernées par le conseil génétique dans la maladie de Huntington.

## CONSEIL GÉNÉTIQUE, ÉTHIQUE ET PSYCHOLOGIE

### #2658 : Supports pédagogiques d'information à la génétique pour enfants et adolescents

#### Auteurs :

Sophie VILLEBASSE (1), Anne-Paule GIMENEZ-ROQUEPLO (2), Isabelle COUPIER (3), Jean-Michael MAZZELLA (2), Khadija Lahlou-Laforêt (2), Alice PAILLET-CAIDENGDUERJI (4)

1. Consultation de Génétique, Gustave Roussy, VILLEJUIF, France
2. Consultation d'oncogénétique des tumeurs endocrines, service de Génétique, Hôpital Européen Georges Pompidou, PARIS, France
3. Service de génétique médicale et chromosomique - Unité d'Oncogénétique, Hôpital Arnaud de Villeneuve, MONTPELLIER, France
4. Direction des Sciences Humaines et Sociales, ADEF Résidences, IVRY SUR SEINE, France

**Mots clefs :** adolescents, consultation de génétique, diaporamas, enfants, livret, ludique, support pédagogique, transmission d'information

#### Résumé :

Les consultations d'oncogénétique sont de plus en plus amenées à recevoir des enfants et des adolescents. Afin de faciliter la compréhension par les plus jeunes de la Génétique et d'aider leurs parents à les informer, le développement de supports pédagogiques est important. Nous avons développé deux types de supports pédagogiques, l'un sous forme de livret et l'autre sous forme de diaporamas, respectivement à l'Hôpital Européen Georges Pompidou (HEGP) à Paris et au CHU de Montpellier.

A l'HEGP, il existe un protocole spécifique pour le dépistage présymptomatique du sujet mineur susceptible d'être porteur d'une prédisposition au paragangliome/phéochromocytome. Ce dépistage est organisé en plusieurs étapes avec intervention du médecin oncogénéticien, du conseiller en génétique et du médecin psychiatre. Lors de la consultation préparatoire, seuls les parents sont reçus. Ils préparent et informent ensuite leur enfant à la future consultation à laquelle il participera. Notre livret explicatif illustré permet de les aider dans cette démarche. Son rôle est de transmettre les informations principales à l'enfant, avant sa venue à la consultation, et de permettre aux parents d'avoir un support d'aide à l'information. Ce livret ciblé sur les formes héréditaires de paragangliome/phéochromocytome, introduit les concepts de base de la génétique, aborde les maladies concernées, et décrit les différentes étapes du dépistage présymptomatique, afin de préparer au mieux l'enfant et de répondre aux questions qu'il pourrait se poser durant son parcours de soin. Ces notions sont abordées de manière simple et ludique, à l'aide d'un vocabulaire adapté à l'enfant et accompagnées d'illustrations parlantes. Il peut être lu directement par l'enfant ou par l'intermédiaire de ses parents.

Au CHU de Montpellier, deux diaporamas dédiés à expliquer la génétique aux petits enfants et aux adolescents ont été créés afin d'être utilisés par les professionnels de santé comme supports visuels lors de consultations de génétique médicale ou d'oncogénétique. Les bases de la génétique (ADN, chromosomes, gènes, mutations génétiques, transmission) y sont abordées de manière simplifiée et imagée. Diverses analogies sont utilisées afin que les informations soient accessibles aux plus jeunes. Ces diaporamas contiennent peu de texte et utilisent des schémas, des images et des couleurs comme vecteurs d'information.

Nos supports d'information peuvent aider les professionnels de la génétique prenant en charge des mineurs. Le livret pourrait être facilement adapté à d'autres pathologies génétiques touchant les mineurs, et donc bénéficier à de nombreux jeunes patients confrontés aux tests génétiques et à la possibilité d'être porteurs d'une anomalie pathogénique héréditaire, ainsi qu'à leurs parents.

## CONSEIL GÉNÉTIQUE, ÉTHIQUE ET PSYCHOLOGIE

#2661 : Maladie de Rendu-Osler et qualité de vie : phase exploratoire de l'élaboration d'une échelle de mesure

### Auteurs :

Manon CARROT (1), Anne CHIRAC (2), Sophie DUPUIS-GIROD (3), Anne Emmanuelle FARGETON (3), Stéphanie BLOIS-DA CONCEICAO (4), Sylvie FOURDRINOY (3)

1. Département de Psychologie de la Santé, Education et Développement (PSED), Institut de Psychologie, Université Lumière Lyon 2, BRON, France
2. Département de Psychologie de la Santé, Education et Développement (PSED), Institut de Psychologie, Université Lumière Lyon 2, BRON, France
3. Service de Génétique et Centre de Référence sur la maladie de Rendu-Osler, Hospices Civils de Lyon, Hôpital Femme Mère Enfant, BRON, France
4. Laboratoire Santé, Individu, Société – SIS EAM 4128 ; Département de Psychologie de la Santé, Education et Développement (PSED), Institut de Psychologie, Université Lumière Lyon 2, BRON, France

**Mots clefs :** Rendu-Osler , Echelle de qualité de vie , Etude qualitative , Analyse thématique

### Résumé :

**Introduction :** Les outils de mesure de la qualité de vie sont souvent génériques et non spécifiques aux problématiques rencontrées par les patients atteints de cette maladie génétique rare.

**L'objectif principal :** Elaborer une échelle de mesure de la qualité de vie adaptée au vécu des patients atteints de la maladie de Rendu-Osler et à leur conception de la qualité de vie dans un contexte de maladie génétique.

**Méthodes :** Etude qualitative par recueil de l'avis des patients sur leur qualité de vie. Cette méthode qualitative est basée sur l'analyse de contenu thématique d'entretiens semi-directifs auprès des patients. Les entretiens ont été enregistrés et intégralement retranscrits. Nous avons ensuite procédé à une analyse verticale (entretien par entretien) puis horizontale en croisant nos résultats afin de faire émerger des thèmes communs à tous les entretiens. Ces thèmes ont servi de base pour l'élaboration des items constituant une première version de l'échelle de mesure de la qualité de vie.

**Résultats :** Treize patients avaient été interrogés au moment d'atteindre une saturation des données, autrement dit lorsque les derniers entretiens n'apportaient pas de nouvelles informations. La définition de la qualité de vie qui émerge de cette analyse est celle d'une qualité de vie liée à la santé. En effet, les patients insistent majoritairement sur l'impact physique des symptômes et les conséquences sur leur vie professionnelle et les activités sociales. La famille et les relations familiales sont également pour eux des points importants de la définition de la qualité de vie. Une difficulté importante souvent rapportée est le manque général de connaissances relatif au caractère rare de cette maladie et le sentiment d'incompréhension qui en découle. Ces résultats serviront de point de départ pour l'élaboration d'une échelle qui devra ensuite faire l'objet d'une validation statistique et être testée auprès des patients.

## CONSEIL GÉNÉTIQUE, ÉTHIQUE ET PSYCHOLOGIE

### #2696 : Quinze ans de consultation multidisciplinaire d'oncogénétique des tumeurs endocrines : enseignements psychologiques et éthiques chez le sujet mineur

#### Auteurs :

Khadija LAHLOU-LAFORET (1), Jean-Michael MAZZELLA (2), Pascale VAN VAECK (3), Isabelle DU PLESSIS D'ARGENTRE (2), Anne-Paule GIMENEZ-ROQUEPLO (4)

1. Consultation multidisciplinaire d'oncogénétique ; U.F. de Psychologie et Psychiatrie de Liaison et d'Urgences, Assistance Publique – Hôpitaux de Paris, Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris, France
2. Consultation multidisciplinaire d'oncogénétique ; Service de Génétique , Assistance Publique – Hôpitaux de Paris, Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris, France
3. Consultation multidisciplinaire d'oncogénétique ; U.F. de Psychologie et Psychiatrie de Liaison et d'Urgences , Assistance Publique – Hôpitaux de Paris, Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris, France
4. Consultation multidisciplinaire d'oncogénétique ; Service de Génétique , Assistance Publique – Hôpitaux de Paris, Hôpital Européen Georges Pompidou ; Université Paris Descartes, Paris, France

**Mots clefs :** test présymptomatique chez le mineur, protocole de test, consultation préparatoire, livret d'information, recommandations éthiques, tumeurs endocrines

#### Résumé :

La consultation d'oncogénétique des phéochromocytomes, paragangliomes et autres tumeurs endocrines, a ouvert à l'HEGP en 2000 pour les adultes. Elle a reçu des sujets mineurs pour test présymptomatique dès 2002. Après une organisation du test au cas par cas, la systématisation de l'accompagnement psychologique des parents et des enfants a permis la définition d'un protocole en trois étapes (étape préparatoire avec les parents, étape du test, étape d'annonce du résultat). Un livret d'information pour les enfants a été rédigé en 2015 (Abstract S. Villebasse et al : Supports pédagogiques d'information à la génétique pour enfants et adolescents). Les 23 premiers protocoles de test ont fait l'objet d'une validation (Lahlou-Laforêt, Horm Metab Res 2012). Au total, 4 critères de validité ont été identifiés : 1/ réalisation du test après une étape de préparation destinée aux deux parents, 2/conseils donnés aux parents pour informer leur enfant, 3/ choix d'une période adéquate pour l'enfant, 4/ réalisation du test en dehors d'une période de bilan ou d'hospitalisation pour le parent porteur de la mutation. 50 sujets mineurs ont été testés (âge moyen = 9 ans). Les principaux enseignements sont : 1/ La consultation préparatoire destinée aux parents est une étape primordiale qui permet de préciser l'indication du test chez leur enfant et d'élaborer leur décision selon un rythme adapté à chaque famille. Cette consultation est présentée et programmée par les secrétaires lors de la prise de rendez-vous par les parents ; 2/ le cadre du test présymptomatique avec une consultation psychologique et un staff multidisciplinaire à chaque étape, reste adapté à la majorité des situations rencontrées ; 3/ ce cadre est renforcé lorsqu'un des parents est décédé de la même pathologie ou est dans un état grave. Des consultations psychologiques complémentaires sont alors prévues ; 4/ lorsque le test a été réalisé entre 6 et 10 ans, une nouvelle consultation avec le généticien et le psychiatre peut être proposée au moment de la nouvelle prise de conscience par l'adolescent de la notion de risque. Au total, l'accompagnement psychologique du test présymptomatique chez les sujets mineurs a été organisé dans un cadre respectant les recommandations éthiques. Il s'enrichit et s'adapte, grâce à l'expérience de situations nouvelles et de réactions inattendues des familles.

## CONSEIL GÉNÉTIQUE, ÉTHIQUE ET PSYCHOLOGIE

### #2734 : Conseil génétique pour la famille d'un homme atteint du syndrome du Cri du Chat : Attention aux remaniements subtélomériques !

#### Auteurs :

Emmanuelle HAQUET (1), Jacques PUECHBERTY (1), Lucile PINSON (1), Pierre SARDA (1), Marjolaine WILLEMS (1), Geneviève LEFORT (2), Franck PELLESTOR (2), Anouck SCHNEIDER (2), Sylvie TAVIAUX (2), David GENEVIÈVE (1), Christine COUBES (1), Patricia BLANCHET (1)

1. Département de Génétique Médicale, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
2. Laboratoire de Génétique Chromosomique, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France

**Mots clefs** : syndrome du Cri du Chat, translocation subtélomérique, Conseil génétique

#### Résumé :

Nous avons reçu en consultation de conseil génétique une femme âgée de 31 ans qui s'inquiétait pour sa descendance du fait de la présence d'un syndrome du Cri du Chat (SCdC) chez son frère aîné âgé de 34 ans. Le SCdC, comporte, outre la voix aigüe caractéristique, une microcéphalie, un retard des acquisitions souvent sévère et d'autres atteintes cliniques variables. L'incidence est d'environ 1 naissance sur 30 000. Le SCdC est le plus souvent causé par une microdélétion de novo de taille variable de l'extrémité du bras court du chromosome 5 (del5p-). Le diagnostic chez le frère de la patiente avait été suspecté cliniquement par les pédiatres dès son plus jeune âge et un caryotype réalisé à l'âge de 4 ans attestait d'une microdélétion 5p. Le conseil génétique se devait donc d'être rassurant. Néanmoins, un caryotype sanguin chez la patiente avec étude spécifique par FISH de l'extrémité télomérique 5p a été proposé, ainsi qu'une consultation de génétique auprès d'un généticien clinicien pour son frère. Le caryotype de la patiente a révélé une trisomie partielle de cette région associée à une délétion partielle de l'extrémité télomérique 4q. Cette patiente n'a pas de déficience intellectuelle et n'exprime aucun phénotype évident malgré le déséquilibre chromosomique. Ce résultat modifiait donc complètement le conseil génétique initialement donné à la patiente pour sa descendance, de même que celui donné à la famille au moment du diagnostic cytogénétique, il y a 30 ans. Ainsi, il importait de pouvoir rechercher chez les parents une translocation équilibrée fortement suspectée. La translocation réciproque a été retrouvée chez la mère des patients et l'enquête familiale faite chez les deux frères de cette dernière s'est révélée négative. Le déséquilibre chromosomique identifié chez la patiente a été caractérisé par une analyse sur puce à ADN. La région délétée en 4q couvre 2,94 Mb et ne contient pas, à priori, de gènes décrits comme pathogènes en délétion. Quant à la duplication en 5p, elle s'étend sur 14,6 Mb et contient de très nombreux gènes. Parmi eux se trouve le gène MTRR impliqué dans la régulation de l'homocystéine. Le dosage de l'homocystéine chez notre patiente a montré un taux élevé, justifiant un traitement par acide folique pour normaliser son taux. Les patients avec SCdC par déséquilibre d'un remaniement parental ont été plusieurs fois décrits et représentent environ 5% des cas. Il n'est donc pas rare d'avoir des remaniements plus complexes auxquels il importe d'être attentif. D'une façon générale, et plus particulièrement dans le syndrome SCdC, lorsque le caryotype du cas index a été réalisé il y a plus de 20 ans ou que les parents du cas index n'ont pas bénéficié d'un caryotype avec technique FISH, il faut proposer une nouvelle analyse chez le cas index et ses parents, ou à défaut chez l'apparenté venant en consultation de conseil génétique.

## CONSEIL GÉNÉTIQUE, ÉTHIQUE ET PSYCHOLOGIE

### #2745 : Présentation de l'étude PREDICT: une étude multicentrique sur l'impact psychologique et socio-professionnel des tests génétiques prédictifs dans les maladies cardiaques héréditaires

#### Auteurs :

Celine Bordet (1), Stéphanie STARACI (1), Claire-Cécile Michon (2), Marie-Lise BABONNEAU (2), Elsa Le Boette (1), Estelle GANDJBAKHCH (1), Carole MAUPAIN (1), Véronique FRESSART (1), Pascale RICHARD (1), curjol angelique (1), Sophie TEZENAS (3), Marcela GARGUILO (4), Philippe Charron (5)

1. centre de référence maladies cardiaques héréditaires, CHU Pitié-Salpêtrière , Paris, France
2. filière nationale CARDIOGEN, CHU Pitié-Salpêtrière , Paris, France
3. Unité de Biostatistiques, CHU Pitié-Salpêtrière , Paris, France
4. Université Paris 5, CHU Pitié-Salpêtrière , Paris, France
5. centre de référence maladies cardiaques héréditaires, CHU Ambroise Paré, Boulogne-Billancourt, France

**Mots clefs** : test génétique prédictif; cardiologie

#### Résumé :

**Contexte.** Les maladies cardiaques héréditaires sont des maladies génétiques rares mais représentant des causes majeures de mort subite et d'insuffisance cardiaque, notamment chez le sujet jeune de moins de 40 ans. L'expression cardiaque est volontiers retardée à l'âge adulte et le test génétique dit « prédictif » est préconisé chez les apparentés asymptomatiques, pour guider la surveillance médicale et permettre une prise en charge thérapeutique précoce. L'impact psycho-social du test génétique prédictif dans ces pathologies est cependant mal connu et les modalités précises de l'accompagnement au cours de la consultation de génétique sont très hétérogènes selon les équipes.

**Les objectifs** de l'étude PREDICT sont (i) d'évaluer l'impact psychologique et socio-professionnel de la révélation du statut génétique sur les personnes à risque de développer une maladie cardiaque héréditaire et qui ont réalisé un test génétique prédictif ; (ii) prendre en compte les modalités d'organisation des consultations de test prédictif des centres investigateurs (consultation pré-test génétique et post-test, présence ou pas du cardiologue, présence ou pas du psychologue, délai de réflexion ou pas avant le prélèvement sanguin).

**Méthode.** L'étude va inclure des apparentés adultes réalisant, ou ayant réalisé, un test génétique prédictif dans le cadre de maladies cardiaques héréditaires. Il comporte deux études distinctes.

- **Etude prospective multicentrique.** Etude menée au sein des centres volontaires à l'aide d'auto-questionnaires « papier » (échelles quantitatives et qualitatives) remplis par les consultants (100 à 150 sujets) à trois moments différents (avant consultation, avant le rendu de résultat, après le rendu de résultat). L'impact du résultat génétique sera analysé en pondérant selon divers paramètres. Une consultation avec entretien semi structurée plus approfondie avec une psychologue sera également proposée à un sous-groupe de consultants.

- **Etude rétrospective multicentrique.** L'étude sera menée à l'aide d'auto-questionnaires « papier » (échelles quantitatives et qualitatives) envoyés par les centres investigateurs au domicile des consultants vus dans le passé en consultation pour test prédictif (400 sujets). Les questionnaires sont envoyés une seule fois et à distance du rendu de résultat génétique.

**Perspectives.** Les résultats apporteront des éléments innovants et déterminants sur la pratique du test génétique prédictif dans les maladies cardiaques héréditaires en France et son impact psycho-social. Des enseignements seront tirés afin d'améliorer les modalités d'accompagnement et de réalisation de ces tests génétiques prédictifs, en vue d'harmoniser les pratiques et le parcours de soins en France.

## CONSEIL GÉNÉTIQUE, ÉTHIQUE ET PSYCHOLOGIE

### #2746 : Borderline hypertrophic cardiomyopathy or athlete's heart: what is the role for genetic testing in athletes?

#### Auteurs :

Maria Arslan (1), Pascale Richard (2), Sylvain Guerard (3), Richard Brion (3), Philippe Paul (4), Celine Bordet (2), Olivier Dubourg (1), Michel Komajda (2), Richard Isnard (2), Nicolas Mansencal (1), Philippe Charron (5)

1. centre de référence maladies cardiaques héréditaires, CHU Ambroise Paré, Paris, France
2. centre de référence maladies cardiaques héréditaires, CHU Pitié-Salpêtrière, Paris, France
3. Service de cardiologie, HIA Lyon, Bron, France
4. Service de cardiologie, HIA Brest, Brest, France
5. centre de référence maladies cardiaques héréditaires, CHU Ambroise Paré, Boulogne-Billancourt, France

**Mots clefs :** genetic testing, cardiology, sport, hypertrophic cardiomyopathy

#### Résumé :

**Background.** Intensive exercise is associated with a modest increase in left ventricular wall thickness (LVWT) and cavity size. In some cases, a doubt may occur between physiological athlete's heart and hypertrophic cardiomyopathy (HCM), and genetic testing has been suggested in the diagnostic work-up. However, no systematic evaluation of genetic testing in athletes is available. The aim of the study was to assess the accuracy and role of genetic testing to distinguish athlete's heart from borderline HCM and make a decision regarding sport/professional activity (authorize or stop).

**Methods.** We studied consecutive athletes (intensive sport > 10 hours/weeks; LVWT between 12 to 16 mm) with a suspicion of borderline HCM according to the clinical status and cardiac examinations. We studied the accuracy of local cardiac diagnostic assessment versus expert referral center (cardiac assessment blinded to the results of local assessment) versus results of genetic testing (analysis of the 5 main sarcomeric genes). All cardiac local and expert assessments were performed according to ECG, echocardiography, exercise test and CMR (when available) and were blinded to genetic results.

**Results.** 37 athletes (35 men) were enrolled, mean age:  $28 \pm 12$  years, mean LVWT was  $13.6 \pm 1.2$  mm. A causative mutation was identified in 27% (10/37, in MYBPC3/MYH7/TNNT2/TNNI3/MYL2 genes) of athletes: among these 10 subjects, 8 had a cardiac diagnosis of suspected HCM and 2 had a suspected diagnosis of athlete's heart. Genetic testing rectified cardiac assessment in 5.4% of our population. Local cardiac evaluation suspected HCM in 70% ( $n = 26$ , only 31% with a mutation) versus 46% ( $n = 17$ , 47% with a mutation) in expert center ( $p = 0.03$ ). In subjects without identified genetic mutation, HCM was suspected in 67% of cases in local center versus 33% in expert center ( $p = 0.01$ ).

**Conclusions.** We report the first systematic evaluation of genetic testing in athletes with a suspicion of HCM. Genetic testing was able to confirm the diagnosis of HCM in 27%, including the rectification of cardiac assessment in 5.4%. No conclusion can be reached when genetic testing is negative. Our results suggest that genetic testing may have a role in athletes with a suspicion of borderline HCM.

**#2755 : Information à la parentèle en génétique humaine et prévention des formes familiales de l'hémochromatose en France : enseignements d'une étude sociologique comparée**

**Auteurs :**

Benjamin Derbez (1), Sandrine De Montgolfier (2)

1. , Inserm, Paris, France

2. , UPEC, Paris, France

**Mots clefs :** information à la parentèle, hémochromatose, conseil génétique, prévention, dépistage, oncogénétique, sociologie, éthique

**Résumé :**

En France, l'hémochromatose fait partie des maladies pour lesquelles un test génétique est le plus fréquemment prescrit, avec près de 42 000 tests en 2014 selon l'Agence de la Biomédecine (2015). On estime en effet que, selon les régions, la prévalence de l'hémochromatose génétique peut en effet aller de 1/1000 à 1/200 (Orphanet), ce qui en fait l'affection génétique la plus répandue sur notre territoire. Caractérisée par un stockage excessif de fer dans l'organisme pouvant conduire à de graves complications hépatiques, cette maladie d'évolution lente reste cependant, selon l'Inserm, trop méconnue. Or, un diagnostic tardif peut compromettre la réussite d'une prise en charge pourtant simple (phlébotomie), peu coûteuse et potentiellement efficace. Ainsi, la question d'un dépistage systématique se pose-t-elle depuis de nombreuses années.

Aujourd'hui, la prévention de l'hémochromatose est essentiellement basée sur le dépistage familial de la maladie. Compte tenu du mode de transmission autosomique récessif, il est ainsi recommandé de proposer systématiquement une enquête auprès des frères et sœurs et enfants des personnes diagnostiquées. Mais la maladie pouvant se manifester, dans certaines circonstances, chez des individus hétérozygotes, avec un risque non négligeable pour ces derniers d'avoir des enfants atteints, élargit potentiellement le champ de cette enquête. Ainsi, la circulation de l'information au sein des familles constitue un élément déterminant du processus de prévention.

Depuis 2011, la loi française impose précisément aux personnes ayant recours à un test génétique d'avertir leurs apparentés en cas de découverte d'une altération concernant une maladie grave pour laquelle il existe des mesures de soins ou de prévention appropriées. En cas de refus, il est prévu que les professionnels de la génétique ayant pratiqué le test puissent avertir eux-mêmes ces apparentés, sur indication du proposant, tout en préservant l'anonymat de ce dernier. En quoi cette évolution du cadre législatif est-elle susceptible d'impacter la prévention de l'hémochromatose en France ?

Le poster que nous proposons présentera les résultats d'études qualitatives menée dans le cadre d'un projet de recherche pluridisciplinaire sur l'« Information de la parentèle dans le cadre de la réalisation des examens génétiques » (INCA / Cancéropole Ile de France N° 2013-130 - 2013-2016). Nous mettrons en regard les données issues d'une enquête de terrain de 6 mois dans le service de génétique du globule rouge d'un CHU et celles recueillies pendant 8 mois dans l'unité d'oncogénétique d'un centre de lutte contre le cancer en région parisienne. Il s'agira montrer les pratiques d'information à la parentèle pourrait favoriser une meilleure prévention dans le champ de l'hémochromatose en France.

## CONSEIL GÉNÉTIQUE, ÉTHIQUE ET PSYCHOLOGIE

### #2799 : Quelles responsabilités pour le patient et le professionnel de santé dans le contexte de l'information génétique à caractère familial ?

#### Auteurs :

Claire Farnos (1), Emmanuelle Rial-Sebbag (1)

1. , , Toulouse, France

**Mots clefs :** information génétique, famille, responsabilité, patient, professionnel

#### Résumé :

Depuis une dizaine d'années, la question de l'information génétique à caractère familial ne cesse d'alimenter les discussions des professionnels de la santé et du droit. L'examen des caractéristiques génétiques d'une personne n'est pas un examen biologique classique. Il est le plus souvent de nature prédictive, révélant la probabilité plus ou moins grande de survenue d'une maladie. En outre, il touche au patrimoine génétique de toute une famille, car il concerne aussi bien le sujet index que certains membres de sa famille. Ainsi, le diagnostic établi suite à la réalisation d'un examen génétique présente des implications particulières, à la fois pour la personne elle-même, et pour sa famille qui se trouve *ipso facto* concernée. Ces implications se posent avec d'autant plus d'acuité lorsque ce diagnostic révèle l'existence d'une anomalie génétique grave pouvant faire l'objet d'un traitement ou d'une prévention efficace.

Entre le respect du secret médical auquel a droit le patient, et l'intérêt que peuvent avoir les membres de sa famille à connaître cette information pour protéger leur santé, le législateur français a trouvé un consensus en 2004 en imaginant une procédure spécifique pour informer la parentèle du patient. Cependant, la complexité de cette procédure a empêché l'élaboration de ses textes d'application, la rendant de fait inapplicable. La réflexion s'est donc poursuivie jusqu'à l'adoption d'une nouvelle procédure par la loi de bioéthique de 2011. Le dispositif légal a par la suite été complété par un arsenal de textes réglementaires, afin de lui donner les moyens de sa pleine effectivité.

Dans sa nouvelle version, la procédure tend à permettre la transmission de l'information génétique au niveau familial dans le respect de la vie privée du patient. Le législateur a cherché ici à concilier l'ensemble des intérêts en présence. Néanmoins, dans le même temps, il a d'une part introduit de nombreuses obligations procédurales à la charge du médecin prescripteur, placé désormais au cœur du dispositif. D'autre part, il a considérablement accru la charge pesant sur le patient vis-à-vis de sa parentèle. Le nouvel article L.1131-1-2 du Code de la santé publique dispose en effet que « *la personne est tenue d'informer les membres de sa famille potentiellement concernés dont elle ou, le cas échéant, son représentant légal possède ou peut obtenir les coordonnées (...)* ». Il en résulte qu'en cas de manquement à cette obligation légale, la personne pourrait être tenue responsable des éventuels dommages causés à ses apparentés.

Cette étude, menée dans le cadre d'un projet de recherche multidisciplinaire financé par l'INCA (2013-mi 2016) sur l'information de la parentèle, vise donc à clarifier les régimes de responsabilité applicables à la fois pour le patient et pour les professionnels de santé, et à mettre en lumière les conséquences que peuvent avoir ces régimes au niveau judiciaire.

## CONSEIL GÉNÉTIQUE, ÉTHIQUE ET PSYCHOLOGIE

### #2807 : Evaluation de la lettre d'information de la parentèle dans le cadre d'un examen des caractéristiques génétiques (étude LIPEG)

#### Auteurs :

Cécile ZORDAN (1), Linda AKLOUL (2), Christophe CORDIER (3), Pauline ROCHE (1), Didier LACOMBE (1), Laura RICHERT (4), Aline MAILLARD (4), Séverine MARTIREN (4), Laetitia MONTEIL (5), Emmanuelle HAQUET (6), Nicolas TARIS (7), Eva TOUSSAINT (1)

1. Service de Génétique Médicale, CLAD Sud-Ouest, CHU de Bordeaux, Université de Bordeaux, BORDEAUX, France
2. Service de Génétique Clinique, CLAD Ouest, Hôpital Sud, CHU de Rennes, RENNES, France
3. Service de Génétique Oncologique, UF6948, CHRU de Strasbourg, STRASBOURG, France
4. Unité de Soutien Méthodologique à la Recherche Clinique et Epidémiologique, CHU de Bordeaux, BORDEAUX, France
5. Service de Génétique Médicale, Hôpital Purpan, CHU de Toulouse, TOULOUSE, France
6. Service de Génétique Médicale, CLAD Sud-Languedoc Roussillon, Hôpital Arnaud de Villeneuve, CHRU de Montpellier, MONTPELLIER, France
7. Service de Génétique Oncologique, CRLCC Paul Strauss, STRASBOURG, France

**Mots clefs :** étude LIPEG, information de la parentèle, décret n°2013-527 du 20 juin 2013, modèle de lettre

#### Résumé :

Le dispositif d'information à la parentèle, selon le décret n°2013-527 du 20 juin 2013, propose un modèle de lettre à adresser aux apparentés d'une personne chez qui a été identifiée une anomalie génétique lorsque cette personne ne souhaite pas informer directement les membres de sa famille. Cette lettre les invite à consulter dans un service de génétique.

L'objectif de notre recherche intitulée LIPEG est l'évaluation de la lettre envoyée et l'harmonisation des pratiques entre professionnels de la Génétique.

Notre première étude avait permis d'évaluer la compréhension, les émotions suscitées et la volonté de donner suite au modèle de lettre publié en annexe du décret (lettre A). Elle a été réalisée grâce à un questionnaire rempli au cours d'un entretien individuel auprès de 73 patients reçus en consultation de conseil génétique et de 75 personnes de la population générale.

Cette étude a été complétée par des entretiens semi-directifs auprès des deux populations précitées mais également auprès de professionnels de la Génétique et des personnes ayant reçu cette lettre dans les conditions réelles de la procédure fixée par le décret. L'ensemble de ces observations a été la base d'échanges entre professionnels et associations de patients ce qui a permis de rédiger une nouvelle lettre (lettre B).

Par la suite, la lettre B a elle-même fait l'objet d'une évaluation, dans les mêmes conditions que pour la lettre A auprès de 75 nouveaux patients et 75 nouvelles personnes de la population générale. En parallèle, la comparaison directe des deux lettres, après lecture aléatoire, a été réalisée par un autre questionnaire auprès de trois autres groupes de participants : des professionnels impliqués dans le conseil génétique, des patients reçus en consultation, des personnes de la population générale, avec un total de 225 participants.

En résumé, nous notons une bonne compréhension des deux lettres et une volonté des participants de contacter un professionnel de santé suite à leur lecture. Le sentiment principal suscité reste l'inquiétude, qui semble plus importante après lecture de la lettre A.

Ce sera pour nous l'occasion de présenter l'ensemble des résultats de cette étude et les recommandations qui en découlent.

## CONSEIL GÉNÉTIQUE, ÉTHIQUE ET PSYCHOLOGIE

### #2810 : L'expérience d'un groupe de parole et d'échange dans le dispositif de suivi des consultations de génétique oncologique

#### Auteurs :

Nicolas Taris (1), Sophie Laurent (1), Jean-Pierre Fricker (1)

1. Oncogénétique, Centre Paul Strauss, Strasbourg, France

**Mots clefs :** oncogénétique, prédisposition, BRCA, groupe de parole

#### Résumé :

L'annonce d'une mutation causale dans l'un des deux gènes *BRCA1* ou *BRCA2* est souvent suivie par un niveau élevé de « détresse psychologique ». L'accès à un soutien psychologique est recommandé par plusieurs référentiels. Les modalités et la durée de ce soutien ne sont pas précisées. A titre d'étude pilote, dans les suites de la consultation d'oncogénétique du Centre Paul Strauss de Strasbourg, nous avons proposé à des femmes porteuses d'une mutation identifiée dans l'un de ces deux gènes, (indemnes ou atteintes de cancer) de participer à un groupe de parole et d'échange.

L'objectif premier de ce groupe était d'offrir un espace de soutien et de partage, permettant un temps de rencontre et de réflexion donnant la possibilité d'exprimer vécus, ressentis, et autres inquiétudes. De manière plus générale, il s'agissait de proposer à ces femmes de poser et d'échanger, en dehors du cadre formel de la consultation de résultat et à distance de celle-ci, les questions inhérentes à la notion de prédisposition génétique. Cette notion de prédisposition génétique va confronter l'individu à des choix difficiles (mastectomie prophylactique par exemple), basés sur la notion de risque. Elle interpelle non seulement l'individu et ses projets de vie mais aussi son histoire familiale, donc éventuellement ses apparentés, ascendants, descendants ou membre d'une même fratrie.

En juin 2014, nous avons contacté par courrier cent personnes dont le résultat génétique (positif) avait été annoncé au cours des deux ans et demi précédents. Un questionnaire leur a été adressé par courrier. Il abordait cinq items présentés sur une page, ciblant l'intérêt, les disponibilités et les éventuels questionnements posés autour de la mise en place de ce dispositif. Le taux de réponse à ce questionnaire a été de 43 % sur une durée de 4 mois après envoi. Parmi les femmes ayant répondu, 63 % ont manifesté un intérêt pour le projet, que ce soit de manière épisodique ou régulière. Pour les 37% n'ayant pas souhaité donner suite, la justification s'articule principalement autour de l'éloignement géographique et du manque de disponibilité.

Depuis novembre 2014, deux groupes de parole ont été mis en place, co-animés par une psychologue et un conseiller en génétique. Par choix, il a été décidé de ne pas faire intervenir de médecin de manière à déplacer ce temps de partage en dehors des thèmes centraux de la consultation.

Pour chacun des groupes (composés respectivement de 8 et 13 femmes, réunis le mercredi soir et le samedi matin), cinq rencontres ont eu lieu, à raison d'une rencontre tous les 2 mois environ. Après une année de fonctionnement, nous proposons de présenter un bilan d'étape et de discuter de la place d'un tel dispositif si particulier dans le suivi des consultations de génétique oncologique.

## CONSEIL GÉNÉTIQUE, ÉTHIQUE ET PSYCHOLOGIE

**#2841 : Pratiques professionnelles et enjeux éthiques associés à l'ajout du conseil génétique dans la loi sur l'information à la parentèle en génétique humaine ?**

### Auteurs :

Diane d'Audiffret Van Haecke (1), Sandrine de Montgolfier (2)

1. Laboratoire Interdisciplinaire d'étude du Politique Hannah Arendt - Paris-Est (LIPHA-PE) , Marne-La-Vallée Cedex, France, Université Paris Est Marne-la-Vallée (UPEM), Marne La Vallée, France
2. Institut de Recherche Interdisciplinaire sur les enjeux Sociaux (IRIS), Ehess/INSERM/CNRS, Paris, France

**Mots clefs :** information à la parentèle, tests génétiques, conseil génétique, loi, génétique, bioéthique

### Résumé :

Le cadre législatif français relatif à la question de la transmission de l'information à la parentèle en cas de maladie génétique a évolué en 2011 par rapport à la version de 2004 : le conseil génétique a été ajouté aux critères requis dans le cadre de l'applicabilité de ce cadre légal sur la transmission de l'information aux apparentés ; quand les critères sont réunis, le patient a la responsabilité légale d'informer sa parentèle ; s'il ne souhaite pas le faire lui-même, le patient peut déléguer cette transmission de l'information au médecin prescripteur. Quelles sont les conséquences éthiques et pratiques de ces évolutions et en particulier de l'ajout du « conseil génétique » au même titre que les autres critères renvoyant à l'obligation d'informer sa parentèle ? Une préenquête en 2012 auprès d'une dizaine de professionnels de santé et un questionnaire en 2014 avec 204 répondants dans le cadre d'un projet de recherche multidisciplinaire financé par l'INCA (2013-mi 2016) et par l'Agence de la Biomédecine sur l'information à la parentèle ont été menés pour appréhender les pratiques actuelles, l'impact de la loi et de ces évolutions, et interroger les enjeux éthiques s'y afférant.

Nous nous proposons dans cette communication de nous interroger spécifiquement sur la place du conseil génétique dans la transmission de l'information à la parentèle en cas de maladie génétique. Nous relaterons tout d'abord le contexte historique du développement du conseil génétique en France des acteurs impliqués, de son rôle et de son fonctionnement. Nous nous intéresserons ensuite aux conditions de l'ajout du conseil génétique au rang des critères de transmission de l'information à la parentèle aux côtés du terme prévention dans l'élaboration et le vote de la loi de 2011. Nous présenterons enfin les résultats des travaux de recherche. Les enquêtes auprès des professionnels ont d'abord révélé des périmètres et des définitions variables attribués à cette pratique. De plus, certaines corrélations de résultats du questionnaire suggèrent des conceptions différentes à propos de la prévention en médecine et ainsi peut-être du rôle des professionnels de santé, en particulier dans le contexte de la génétique. Ces interrogations sont renforcées par l'essor de la biomédecine depuis les années 80 et l'accélération des avancées biotechnologiques ces dernières années. N'y-a-t-il pas une réflexion épistémologique à mener sur les concepts de prévention et donc sur les objectifs de la consultation de conseil génétique dans le cadre de la génétique médicale afin de bien délimiter son champ d'action dans les pratiques professionnelles ? Le conseil génétique est-il un critère, un moyen de prévention ou un moyen d'accompagnement des personnes, et quels enjeux éthiques sont associés à ce débat ?

## CONSEIL GÉNÉTIQUE, ÉTHIQUE ET PSYCHOLOGIE

**#2848 : Probabilités bayésiennes et tableaux de contingence pour préciser le calcul du risque génétique**

### **Auteurs :**

Franck Sturtz (1), Anne-Sophie Lia (1)

1. Biochimie et Génétique Moléculaire, CHU Dupuytren, Limoges, France

**Mots clefs :** Probabilités bayésiennes, tableau de contingence, calcul du risque génétique

### **Résumé :**

Le calcul du risque génétique est souvent une tâche relativement compliquée pour les personnels de santé qui doivent traduire en termes mathématiques des éléments génétiques, cliniques ou biologiques. De plus, ces dernières années le calcul du risque génétique s'est enrichi de nombreuses informations (dosages, recherche de mutations,...). Les probabilités bayésiennes qui tiennent compte d'informations pour préciser le risque sont très utilisées mais sont souvent, elles aussi, difficiles à utiliser dans la pratique car la formule classique n'est pas d'usage intuitif. Nous proposons donc l'utilisation plus large et plus fréquente de tableaux de contingence pour le calcul du risque génétique des individus pour lesquelles plusieurs informations, susceptibles de modifier le risque, sont disponibles.

Par exemple, quelle est la probabilité pour une mère d'être porteuse du gène de la maladie de Duchenne de Boulogne (transmission liée à l'X) sachant qu'elle a déjà 4 fils non-atteints par cette maladie, que cette femme a 2 frères atteints par la maladie et que les enzymes musculaires sont anormales chez elle (celles-ci sont anormalement élevées dans environ 70% des cas de portage de la mutation mais que 1% environ de la population saine a des CK élevées) (Sibert et al., 1979, Arch. Dis. Child. et Lilleng et al., 2011, Neuromusc. Dis.) Nous pensons que les tableaux de contingence présentent plusieurs avantages notables :

- ils permettent d'établir, de façon assez simple pour des personnels de santé, les hypothèses et leurs probabilités,
- ils permettent de vérifier les calculs beaucoup plus facilement qu'avec la formule de Bayes,
- surtout, ils permettent d'utiliser plusieurs informations pertinentes dans un même calcul, à condition que celles-ci soient indépendantes,
- enfin, ils remplacent avantageusement la formule de Bayes généralisée à plusieurs événements  $E_i$ , d'une utilisation assez ardue.

## CONSEIL GÉNÉTIQUE, ÉTHIQUE ET PSYCHOLOGIE

**#3042 : Etude de l'ADN fœtal dans le sang maternel pour la détection de la trisomie 21 en population à risque accru: adhésion des couples et motifs de refus.**

### Auteurs :

Olivia Anselem (1), Sarah Keroui (1), Jean-Marc Costa (2), François Goffinet (1), Vassilis Tsatsaris (1)

1. maternité Port Royal, Hopital Cochin, Paris, France

2. Département de Biologie spécialisée et Génétique, Laboratoire Cerba, Saint Ouen L'aumône, France

**Mots clefs :** diagnostic prénatal non invasif, trisomie 21, ADN fœtal circulant.

### Résumé :

**Introduction** Le dépistage prénatal non invasif de la trisomie 21 par l'analyse de l'ADN fœtal circulant dans le sang maternel est aujourd'hui présenté comme une alternative aux examens invasifs, qui offre l'avantage de ne pas être associée à un risque de perte fœtale. On peut supposer que le frein majeur à la réalisation de ce test est son coût et que son remboursement permettra bientôt de généraliser son utilisation afin de réduire le nombre de pertes fœtales liées aux gestes invasifs. Néanmoins, il est probable que d'autres freins à la réalisation du test existent. L'objectif de cette étude est d'identifier les déterminants associés à la réalisation d'un dépistage prénatal de la trisomie 21 par l'étude de l'ADN fœtal circulant chez les femmes à risque accru.

**Matériels et méthodes** Il s'agit d'une étude prospective unicentrique réalisée dans un service de diagnostic prénatal du 15 juillet 2014 au 15 décembre 2014 sur 99 femmes consécutives présentant un risque combiné de trisomie 21 supérieur à 1/250. Les grossesses multiples et les anomalies échographiques fœtales étaient exclues. Après une information préalable sur les risques et performances des différents tests proposés, les patientes étaient interrogées sur les motifs de leur choix par le consultant.

**Résultats** La détection des trisomies 13, 18 et 21 par l'étude de l'ADN fœtal circulant a été proposée à 95 femmes sur 99, parmi elles, 43 femmes (45,3%) ont souhaité la réalisation du test. Le nombre de femmes ayant un risque de trisomie 21 supérieur à 1/100 était comparable dans les deux groupes : 17 (39,5%) parmi celles qui ont souhaité l'étude de l'ADN fœtal circulant et 16 (30,8%) parmi celles qui ne l'ont pas souhaité. Parmi les 43 femmes qui ont souhaité la réalisation de l'étude de l'ADN fœtal circulant, 17 (38,6%) appartenaient à une catégorie socio-professionnelle supérieure, contre 10 (19,2%) parmi celles qui ne l'ont pas souhaité ( $p=0,03$ ). Le motif invoqué par les 52 femmes n'ayant pas eu recours à l'étude de l'ADN fœtal était le plus souvent le coût, avancé par 30 femmes (57,7%), puis le fait qu'il ne s'agissait pas d'un « diagnostic de certitude » pour 23 femmes (44,2%). Parmi les femmes qui n'ont pas réalisé l'étude de l'ADN fœtal circulant, 31 ont opté pour un examen diagnostique invasif, 19 pour une échographie avec recherche de signes mineurs de trisomie 21 et 2 n'ont souhaité aucun examen complémentaire.

**Conclusion** L'étude de l'ADN fœtal circulant dans le sang maternel pour la détection de la trisomie 21 ne semble pas acceptée par la majorité des couples actuellement. Le coût est aujourd'hui le motif principal de non recours au test, mais il apparaît que l'absence de diagnostic de certitude est également un frein pour certains couples.

## CONSEIL GÉNÉTIQUE, ÉTHIQUE ET PSYCHOLOGIE

### #3053 : Conseil génétique devant un tableau d'Ellis-Van Creveld : à propos de trois familles

#### Auteurs :

Manel Hsairi (1), Neïla Belguith Mahfoudh (1), Fatma Abdelhedi (1), Ikhlas Ben Ayed (1), Nourhène Gharbi (1), Hassen Kamoun (1)

1. Service de Génétique , CHU Hedi Chaker Sfax, Sfax, Tunisie

**Mots clefs :** dystrophie thoracique, cotes courte, polydactylie, cardiopathie

#### Résumé :

##### Introduction :

Le syndrome d'Ellis-Van Creveld (EVC) est une dysplasie chondro-ectodermique secondaire à une mutation au niveau du gène *EVC1* ou du gène *EVC2* situés en 4p16. Ce syndrome associe quatre anomalies principales : une chondrodysplasie, une polydactylie, des anomalies ectodermiques et des malformations cardiaques. Nous rappelons à partir des observations de trois familles différentes les caractéristiques cliniques et génétiques de ce syndrome ainsi que les modalités de prise en charge.

##### Observations

La première observation concerne un nourrisson de 10 mois, issu de parents cousins germains, qui présente une micromélie, une dystrophie thoracique, une malformation cardiaque congénitale à type de communication atrio-ventriculaire et une hexadactylie bilatérale sans dysmorphie faciale particulière. La mère a fait une fausse couche et deux interruptions thérapeutiques de grossesse pour micromélie, dystrophie thoracique, déformation rachidienne associée à une malformation cardiaque. Au cours de la grossesse l'échographie morphologique a objectivé les mêmes anomalies mais l'interruption de la grossesse a été refusée par le couple.

La deuxième observation est à propos d'une fille et d'un garçon, issus d'un mariage consanguin, décédés à l'âge de 2 mois et 4 mois respectivement. Ces nourrissons présentaient chacun une malformation cardiaque, une micromélie, un thorax hypoplasique et une polydactylie. L'enquête familiale a révélé la notion de 3 cas similaires décédés au bas âge.

La troisième observation concerne un couple d'apparentés ayant des antécédents de mort fœtale in utéro. Ce couple a eu 4 grossesses arrêtées à des termes différents pour des malformations cardiaques associées à une micromélie et un thorax hypoplasique.

##### Discussion et Conclusion :

Le syndrome EVC est une maladie rare; environ 150 cas ont été rapportés dans le monde. Il se transmet selon le mode autosomique récessif avec un risque de récurrence de 25%. Il est caractérisé par une expressivité variable induisant une hétérogénéité phénotypique inter et intra-familiale. Le diagnostic différentiel se pose en anténatal avec les syndromes côtes courtes polydactylie et après la naissance avec la dystrophie thoracique de Jeune, le syndrome de McKusick-Kaufman et le syndrome de Weyers. L'étude moléculaire permet le diagnostic positif. Par défaut, le dépistage anténatal est possible par biométrie fœtale et par la constatation de malformations cardiaques avec polydactylie lors de l'examen échographique. La décision de l'interruption thérapeutique de la grossesse reste difficile puisque les enfants atteints ont un développement psychomoteur normal et le pronostic vital dépend des problèmes respiratoires éventuellement rencontrés au cours des premiers mois de vie et des malformations cardiaques associés.

## CONSEIL GÉNÉTIQUE, ÉTHIQUE ET PSYCHOLOGIE

**#3062 : Un nouveau modèle pour les laboratoires médicaux dans Orphanet adapté aux évolutions de la génomique dans un contexte international.**

### Auteurs :

Martin Arles (1), Valérie Lanneau (1), Bénédicte Belloir (1), Charlotte Gueydan (1), Sylvain Gerard (1), Marc Hanauer (1), Ana Rath (1)

1. US14 - Orphanet, Inserm, Paris, France

**Mots clefs :** maladies rares, base de données, tests génétiques, séquençage haut-débit, soins transfrontaliers

### Résumé :

Pour les patients atteints d'une maladie rare, obtenir rapidement un diagnostic précis est essentiel afin d'accéder à une expertise médicale appropriée. La majorité des maladies rares étant d'origine génétique, un accès rapide aux catalogues de laboratoires médicaux réalisant les tests génétiques est fondamental pour les professionnels de la santé qui les prescrivent. Compte tenu de la diversité des techniques actuellement utilisées pour diagnostiquer une maladie, il est nécessaire d'identifier facilement les laboratoires en fonction des techniques qu'ils proposent. Orphanet ([www.orphanet.fr](http://www.orphanet.fr)), portail de référence mondial sur les maladies rares et les médicaments orphelins, offre un ensemble de services gratuits en libre accès dont un répertoire sur les laboratoires médicaux et leurs tests génétiques en fonction des maladies testées. Pour répondre aux récentes évolutions dans le domaine, Orphanet fait évoluer sa base de données pour, d'une part représenter les nouvelles techniques génétiques et génomiques et, d'autre part, pour faciliter l'identification des laboratoires dans le cadre de la directive européenne de soins transfrontaliers. Ce nouveau modèle permet une recherche beaucoup plus spécifique et efficace des laboratoires et des tests. En effet, il incorpore, pour chaque test, son contexte (prénatal, postnatal, préimplantatoire, etc.), sa spécialité de biologie médicale (génétique moléculaire, cytogénétique, etc.), son objectif (recherche de mutations spécifiques, séquençage complet, étude de méthylation, etc.) ainsi que la ou les techniques utilisées (Sanger, séquençage haut-débit, etc.). Par ailleurs, le modèle offre toujours, mais d'une façon plus conviviale, la possibilité de filtrer les résultats par pays et/ou par données qualité des laboratoires (accréditations, *contrôles de qualité* externes – CQE –). *Ce modèle permet également d'améliorer la représentation des tests diagnostiques réalisés par séquençage haut-débit, notamment en donnant accès aux panels de gènes testés ainsi qu'à différentes informations sur ces panels (nom, description, fournisseur).* Sur Orphanet, ces évolutions concernent environ 34.000 tests génétiques, disponibles pour 3.500 maladies rares dans 39 pays. Elles facilitent et simplifient l'identification du laboratoire le plus adéquat pour réaliser un test précis. Aucun pays n'étant, actuellement, en capacité d'offrir toute la gamme de tests génétiques réalisables pour tous les gènes, ce nouveau modèle est particulièrement intéressant pour l'identification de diagnostics transfrontaliers.

## CONSEIL GÉNÉTIQUE, ÉTHIQUE ET PSYCHOLOGIE

**#3074 : Syndrome de timothy incomplet secondaire à une mutation du gène cacna1c en mosaïque diagnostiqué par l'intermédiaire des nouvelles technologies.**

### Auteurs :

Amandine BAURAND (1), Laurence FAIVRE (1), Sylvie FALCON EICHER (2), Gabriel LAURENT (3), Antoine BURGUET (4), Caroline BONNET (2), Christel THAUVIN (1), Caroline JACQUOT (1), Vincent PROBST (5), Florence KYNDT (6)

1. Centre de génétique et Centre de référence maladies rares et anomalies du développement et syndromes malformatifs, CHU Dijon, DIJON, France
2. Cardiologie Pédiatrique et Congénitale Adulte, CHU Dijon, DIJON, France
3. Centre de compétences des troubles du rythme cardiaque, CHU Dijon, DIJON, France
4. Réanimation Pédiatrie, CHU Dijon, DIJON, France
5. Unité de génétique cardiologique, CHU Nantes, NANTES, France
6. Laboratoire de génétique moléculaire, CHU Nantes, NANTES, France

**Mots clefs :** syndrome de Timothy, mosaïcisme, nouvelles technologies, présentation incomplète

### Résumé :

**Introduction :** Le syndrome de Timothy est une canalopathie rare de transmission autosomique dominante comprenant un allongement de l'espace QT, une syndactylie des doigts et des orteils, des particularités du visage et des troubles du spectre autistique. Peu de cas sont décrits dans le monde. Des mutations du gène *CACNA1C* localisé en 12p13.3 sont mises en évidence chez les patients atteints, et en particulier une mutation faux sens récurrente p.Gly406Arg dans l'exon 8A. Cette mutation fréquente est le plus souvent retrouvée de survenue de novo. En effet, la gravité de ce syndrome et son espérance de vie réduite ne permettent pas aux personnes affectées d'atteindre l'âge adulte. Il est cependant décrit des parents d'enfants atteints chez lesquels une mutation au sein du gène *CACNA1C* est retrouvée en mosaïque alors que ceux-ci présentent des formes atténuées voir asymptomatiques.

**Cas clinique :** Patiente de 6 ans, ayant comme antécédent une syndactylie des mains et des pieds opérée, qui est admise en réanimation pédiatrique dans les suites d'un arrêt cardiocirculatoire récupéré. L'ECG objective un QT long évocateur d'un syndrome de Timothy pouvant atteindre 500 ms. Elle ne présente pas de dysmorphie faciale. Son développement psychomoteur est normal.

**Méthode :** Un séquençage Sanger du gène *CACNA1C* est proposé, poursuivi par le séquençage des gènes *KCNQ1*, *KCNH2*, *KNCE1*, *KCNE2*. En analyse secondaire, un panel de gènes responsables de troubles du rythme cardiaque héréditaires est étudié par technologie Haloplex.

**Résultats :** Aucune mutation n'est retrouvée en séquençage Sanger. Une mutation faux sens en mosaïque p.Gly406Arg du gène *CACNA1C* (18% d'allèles mutés contre 82% sauvages sur le prélèvement sanguin) est finalement mise en évidence par technologie Haloplex.

**Discussion :** Le mosaïcisme peut expliquer les difficultés pour retrouver cette mutation en séquençage de type Sanger. Il peut également expliquer le phénotype atténué chez cette patiente. Ces observations montrent l'intérêt des nouvelles technologies de séquençage pour identifier des mutations en mosaïques compatibles avec le tableau clinique et non détectées par les technologies classiques.

**Auteurs :**

Alexandra Durr (1), Hélène Francisque (1), Jean-Yves Rotge (2)

1. APHP Département de génétique; Institut du Cerveau et de la Moelle Epinière, INSERM U1127, CNRS UMR7225, Sorbonne Universités – UPMC Université Paris VI UMR\_S1127, Paris, France, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière; , paris, France

2. Département de psychiatrie; Institut du Cerveau et de la Moelle Epinière, INSERM U1127, CNRS UMR7225, Sorbonne Universités – UPMC Université Paris VI UMR\_S1127, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière;, paris, France

**Mots clés :** ataxie de Friedreich, tests neuropsychologiques, personnalité, Mill-Hill, Paced Auditory Serial Addition Test, Temperament and Character Inventory

**Résumé :**

**Introduction et objectifs** L'ataxie de Friedreich est l'ataxie autosomique récessive la plus fréquente. La mutation par expansions de triplets GAA non-codants du gène de la frataxine, entraîne un dysfonctionnement mitochondrial. Le tableau clinique associe une ataxie sensitive et cérébelleuse, un syndrome pyramidal et une cardiomyopathie. L'atteinte se situe au niveau des ganglions rachidiens avec des lésions secondaires du cervelet. Des études neuropsychologiques chez des patients atteints de l'ataxie de Friedreich ont montré une diminution de la vitesse de traitement de l'information et du contrôle des impulsions ainsi qu'une irritabilité. A partir de notre expérience clinique, l'objectif était d'étudier la présence ou non d'une altération cognitive, d'explorer la personnalité et les troubles de l'humeur chez ces patients. **Méthodes** 50 participants de la cohorte européenne EFACTS (European Friedrich's Ataxia Consortium for translational Studies) ont été inclus à l'institut du Cerveau et de la Moelle épinière à Paris. L'évaluation neuropsychologique concernait : le raisonnement logique en modalité visuelle, niveau de vocabulaire, mémoire épisodique verbale, capacités attentionnelles et d'inhibition, cognition sociale et reconnaissance des émotions. Les profils de personnalité ont été étudiés à partir du Temperament and Character Inventory (TCI), la dépression évaluée à l'aide de la Beck Depression Inventory (BDI). L'ensemble des évaluations a été comparé à la population générale comme valeur de référence. **Résultats** La plupart des fonctions cognitives étaient préservées. Il a été observé une diminution de la vitesse de traitement de l'information, une fatigabilité attentionnelle et une baisse du niveau de vocabulaire. Ces deux derniers effets étaient liés à l'âge au moment de l'évaluation, au sexe et au niveau d'éducation. Une relation directe avec la pathologie est suggérée par le modèle de régression entre le niveau de vocabulaire et le nombre de répétitions GAA d'une part, et entre les capacités attentionnelles, l'âge de début de la maladie et la sévérité du handicap d'autre part. Aucun lien n'a été observé entre l'évaluation de l'humeur et les variables démographiques et cliniques. Les scores sur les profils de personnalité ont montrés une augmentation de la dimension *persistance* et une diminution de la dimension *self-transcendance* de manière significative. Dans un modèle de régression, la dimension *persistance* était liée au niveau d'éducation, inversement liée à l'âge de début de la maladie et à la longueur des répétitions GAA. **Discussion** Ces résultats indiquent que les fonctions cognitives sont globalement préservées. Le fait qu'une dimension de la personnalité, *persistance*, dans l'ataxie de Friedreich soit liée à l'âge de début de la maladie et à la répétition du GAA, amène à penser que l'âge de début de la maladie, se situant en moyenne vers 15 ans au moment de l'adolescence, est un facteur susceptible d'influencer le profil de personnalité.

## CONSEIL GÉNÉTIQUE, ÉTHIQUE ET PSYCHOLOGIE

### #3084 : Recherche sur les attentes et les représentations des généticiens médicaux face aux technologies de séquençage à haut débit (SHD) dans le cadre de la pratique de la génétique médicale pour le cas des anomalies du développement

#### Auteurs :

Françoise HOUDAYER (1), Elodie GAUTIER (2), Christel THAUVIN (2), Julien THEVENON (2), Jean-Baptiste RIVIERE (2), Sylvie ODENT (3), Lorraine JOLY (4), Sophie BEJEAN (5), Aurore PELISSIER (6), Christine PEYRON (6), Christine BINQUET (7), Aline CHASSAGNE (8), Elodie CRETIN (9), Olivier PUTOIS (10), Anne-Sophie LAPOINTE (11), Paulette MORIN (11), AnDDI-Rares Filière (12), Patrick EDERY (1), Massimiliano ROSSI (1), Damien SANLAVILLE (1), Laurence FAIVRE (2)

1. Centre de Référence Maladies Rares, CHU Lyon, Lyon, France
2. FHU TRANSLAD - Hôpital d'Enfants, CHU Dijon, Dijon, France
3. Centre de Référence Maladies Rares, CHU Rennes, Rennes, France
4. Centre de Référence Maladies Rares, CHU Dijon, Dijon, France
5. FHU TRANSLAD; LEDi, Université de Bourgogne, Dijon, France
6. LEDi, Université de Bourgogne, Dijon, France
7. FHU TRANSLAD; INSERM CIC 1432 (CIC-EC), CHU Dijon, Dijon, France
8. Inserm CIC 1431; EA 3189, LASA, CHU Besançon; Université de Franche-Comté, Besançon, France
9. FHU TRANSLAD ; EEBFC, CHU Besançon, Besançon, France
10. Psychopathologie Clinique, Université de Strasbourg, Strasbourg, France
11. Alliance Maladies Rares, Alliance Maladies Rares, Paris, France
12. Filière AnDDI-Rares, CHU Dijon, Dijon, France

#### Résumé :

Le séquençage haut débit (SHD), et en particulier le SHD d'exome (SHD-E), est en phase de révolutionner le diagnostic des maladies rares, et en particulier les maladies du développement, groupe où 50% des patients restaient sans diagnostic. Néanmoins, le SHD-E entraîne des évolutions de la pratique médicale. Au moment où la France se mobilise pour transférer cette technologie dans le soin, il apparaissait important d'interroger les généticiens sur leurs attentes et représentations face à ses nouvelles technologies. Lors du séminaire de Génétique Clinique de Janvier 2015, un questionnaire a été remis. 106 réponses ont été transmises, 29% des généticiens exerçaient depuis plus de 15 ans, 24% entre 5 et 15 ans, 47% < 5 ans ou en formation. 54% des répondants exerçaient une activité en génétique clinique, 33% mixte, 13% en laboratoire exclusif. 48% avaient déjà prescrit un SHD-E, dont 67% avec une expérience assez limitée (< 10 tests), et 40% uniquement dans le cadre de la recherche. Seuls 25% d'entre eux avaient déjà rendu un résultat. Parmi ceux qui n'en avaient jamais rendu, 68% se sentaient prêt à en rendre, les autres étaient essentiellement des internes, estimant ne pas avoir une connaissance suffisante. 42% estiment que le SHD-E devrait être prescrit lorsqu'un panel ciblé aura été réalisé, contre 38% en 1ère intention après ACPA négative, et 10% lorsque toutes les investigations classiques auront été réalisées. L'attente principale des généticiens est d'augmenter le nombre de diagnostics étiologiques posés pour répondre aux interrogations des familles. 96% des répondants étaient conscients des limites du SHD-E. 68% des généticiens souhaiteraient rendre des variants clairement et potentiellement pathogènes, 27% seulement clairement pathogène et 5% tous les variants. Concernant les résultats fortuits clairement pathogènes, 66% estimaient qu'il faudrait les rendre uniquement dans les gènes définis par l'ACMG pour lesquels des mesures de préventions sont disponibles, 33% dans les autres gènes également, y compris les statuts d'hétérozygotes de maladies récessives si les patients le souhaitent, et 1% ne rendre aucune découverte fortuite. 91% estiment que le consentement devrait donner le choix au patient sur ses souhaits concernant ses données incidentales. 74% exprimaient des craintes à l'utilisation du SHD-E, dont 91% vis-à-vis des bouleversements entraînés dans la pratique médicale, en particulier la gestion des résultats incertains et des découvertes incidentales, mais aussi les implications pour le patient, à savoir la nécessité de connaître plus de bases en génétique, et de choisir s'ils veulent des résultats au-delà de leur demande diagnostique. 94% des médecins pensent que la présence d'un psychologue est utile pour l'annonce d'un résultat pendant la consultation et à distance. Ces données sont importantes pour mieux accompagner généticiens et patients et leurs familles dans le cadre de la mise en place de ces nouvelles technologies.

## CONSEIL GÉNÉTIQUE, ÉTHIQUE ET PSYCHOLOGIE

#3138 : De la prédisposition comme cause de divorce. Tirons la leçon de nos erreurs.

### Auteurs :

Christelle Cabrol (1), Elise Brischoux-Boucher (1), Lyse Ruaud (2), Juliette Piard (1), Lionel Van Maldergem (2)

1. Centre de Génétique Humaine, CHRU, site Saint-Jacques, Besançon, France

2. Centre de Génétique Humaine et UFR SMP, CHRU, site Saint-Jacques et Université de Franche-Comté, Besançon, France

**Mots clefs** : conseil génétique, psychologie, social, interprétation, compréhension

### Résumé :

Nous présentons une famille dans laquelle les deux enfants, un frère et une sœur âgés de 12 et 9 ans, présentent une encéphalopathie sévère. Dans un premier temps, sur la base d'un profil oligosaccharidique anormal, d'un déficit de l'activité alpha-N-acétylgalactosaminidase et de l'identification d'une mutation d'épissage de *NAGA* à l'état homozygote, le diagnostic de maladie de Schindler a été porté chez l'ainé. Un diagnostic prénatal moléculaire a été ensuite réalisé et a conclu à l'absence d'atteinte du fœtus de sexe féminin. L'évolution postnatale de l'enfant est cependant venue invalider ce résultat, les signes d'encéphalopathie sévère touchant à présent la deuxième née. Cette récurrence associée à un questionnement sur l'existence même de la maladie de Schindler nous ont conduits à une réévaluation du diagnostic initial et à la recherche d'une autre cause. Dans ce processus, la réalisation d'une CGH-array a indiqué la présence d'une microdéletion interstitielle de 50Kb en 7q11.22 interrompant *AUTS2* retrouvée chez les deux enfants atteints et chez leur père indemne. Les données actuelles de la littérature médicale permettent de suspecter un lien causal entre cette microdéletion (seule ou interaction avec un autre facteur génétique et/ou environnemental) et le tableau clinique présenté par les cas index, ce qui fut communiqué à la famille. Des études complémentaires sont actuellement en cours afin de confirmer ou d'infirmier cette hypothèse diagnostique. Au cours du rendu de ce résultat au couple parental, et malgré les réserves formulées, l'épouse, puis les autres membres de la famille ont pointé le père comme dès lors responsable du handicap sévère présenté par ses enfants. Malgré nos multiples tentatives pour enrayer cet emballement accusateur par des explications concernant la nuance entre facteur de prédisposition et facteur causal, rien n'y fit. La rupture entre les conjoints fut consommée et la mère des enfants laissée en proie à des sentiments amers. Nos tentatives de faire appréhender aux parents la notion d'hérédité et le concept de hasard de la transmission se sont avérées ici inopérantes. L'histoire médicale éprouvante de cette famille illustre à elle-seule plusieurs aspects qu'il nous paraît important de prendre en considération lorsque nous transmettons le résultat de nos bilans étiologiques et formulons un conseil génétique. En effet, cette double expérience négative met en lumière les difficultés pouvant être engendrées par un bilan étiologique erratique, ainsi que les limites de notre nouvelle médecine moléculaire, surtout dans l'interprétation des résultats et la manière dont nous communiquons nos (in)certitudes et faisons passer (ou pas) les nuances.

« Ce qui est écrit (la mutation) n'est pas toujours vrai » Les répercussions psycho-sociales de nos certitudes peuvent être parfois, comme ici, immenses.

*Primum non nocere*

#3165 : Détection d'une mosaïque germinale dans une famille d'hydrocéphalie liée à l'X

**Auteurs :**

Coline POIZAT AMAR (1), Pascale SAUGIER VEBER (2), Audrey PUTOUX (3), Patrick EDERY (3), Connie STUMPEL (4), Hans JS VLES (5), Massimiliano ROSSI (3)

1. Service de génétique clinique, Hôpital Femme Mère Enfant, LYON, France
2. Service de génétique et Inserm U1079, CHU de Rouen et Université de Rouen, ROUEN, France
3. Service de génétique clinique et Centre de recherche en neurosciences, INSERM U1028; CNRS UMR 5292; UCBL; Equipe GENDEV, Hôpital Femme Mère Enfant, LYON, France
4. Département de génétique clinique, Université de Maastricht, Maastricht, France
5. Service de neurologie pédiatrique, Hôpital de Maastricht, MAASTRICHT, France

**Mots clefs :** mosaïque germinale, hydrocéphalie liée à l'X, L1CAM

**Résumé :**

**Introduction :** Le gène *L1CAM*, localisé en Xq28, code pour une molécule d'adhésion cellulaire qui appartient à la superfamille des immunoglobulines. Au cours du développement du système nerveux, la protéine L1CAM joue un rôle clé dans la migration neuronale, les fasciculations neuronales, la croissance axonale et la formation des synapses. Les mutations du gène *L1CAM* sont responsables d'un large spectre phénotypique comprenant l'hydrocéphalie liée à l'X avec sténose de l'aqueduc de Sylvius (HSAS ou syndrome de Bickers-Adams), le syndrome MASA (*Mental Retardation, Aphasia, Shuffling gait, Adducted thumbs*), une forme de paraplégie spastique associée à une déficience intellectuelle (SPG1) et une forme d'agénésie du corps calleux associée à une déficience intellectuelle.

**Résultats :** Nous rapportons l'identification d'une mutation à l'état hémizygote dans l'exon 7 du gène *L1CAM* chez un cas sporadique de HSAS : c.719C > T ; p.(Pro240Leu). Cette mutation a déjà été identifiée dans trois formes familiales de HSAS et sa pathogénicité ne fait aucun doute. Dans le cadre du conseil génétique, le statut de conductrice de la mère du cas index a été confirmé. Une tante maternelle du cas index est également conductrice tandis qu'une autre tante ne l'est pas. De façon intrigante, la grand-mère maternelle n'est pas porteuse de la mutation dans le sang périphérique. L'exploration de 3 marqueurs microsatellites localisés de part et d'autre du gène *L1CAM* indique que les deux tantes ont hérité du même allèle maternel. L'ensemble de ces résultats évoque très fortement l'existence d'une mosaïque germinale dans cette famille.

**Discussion :** Très fréquentes dans la dystrophie musculaire de Duchenne ou l'ostéogénèse imparfaite, les mosaïques germinales sont rares dans l'hydrocéphalie liée à l'X. Ainsi, seuls 4 cas ont été rapportés et, dans notre expérience, sur 230 familles avec mutation du gène *L1CAM*, il s'agit de la première mosaïque germinale authentifiée. Compte-tenu de l'impact majeur pour le conseil génétique, il est important d'adopter certaines attitudes pour limiter le risque d'ignorer une mosaïque germinale. Ainsi, il convient de proposer cette étude à toutes les sœurs d'un cas index ou d'une femme conductrice même lorsque leur mère est non porteuse de la mutation. De même, dans les cas sporadiques, il convient de proposer un diagnostic prénatal aux mères des cas index, même si elles ne sont pas porteuses de la mutation.

## CONSEIL GÉNÉTIQUE, ÉTHIQUE ET PSYCHOLOGIE

**#3214 : Offre de soins et modalités de coordination de l'expertise multidisciplinaire pour les anomalies du développement en France: résultats de deux enquêtes nationales AnDDI-Rares.**

### Auteurs :

Massimiliano Rossi (1), Alice Goldenberg (2), Sophie Naudion (3), Céline Vernin (1), Laurent Demougeot (4), Daniel Amram (5), Pierre Bitoun (6), Dominique Bonneau (7), Lydie Burglen (8), Patrick Calvas (9), François Cartault (10), Jean Chiesa (11), Patrick Collignon (12), Albert David (13), Salima El Chehadeh (14), Christine Francannet (15), Dominique Gaillard (16), David Geneviève (17), Marion Gérard (18), Brigitte Gilbert-Dussardier (19), Fabienne Giuliano (20), Irina Giurgea (21), Delphine Héron (22), Bertrand Isidor (13), Pierre-Simon Jouk (23), Hubert Journal (24), Didier Lacombe (3), Bruno Leheup (25), Stanislas Lyonnet (26), Sylvie Manouvrier (27), Dominique Martin-Coignard (28), Gilles Morin (29), Sylvie Odent (30), Philippe Parent (31), Nicole Philip (32), Marilyn Port-Lis (33), Joëlle Roume (34), Pierre Sarda (35), Renaud Touraine (36), Annick Toutain (37), Alain Verloes (38), Damien Sanlaville (39), Patrick Edery (39), Christel Thauvin-Robinet (4), Laurence Faivre (4)

1. , CLAD Centre Est, CHU de Lyon , Bron, France
2. , CC AD Rouen, CHU de Rouen , Rouen, France
3. , CLAD Sud-Ouest, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France
4. , CLAD Est, CHU de Dijon , Dijon, France
5. , CLAD Ile de France, CHI de Créteil , Créteil, France
6. , CLAD Ile de France, APHP Jean Verdier Bondy , Bondy, France
7. , CLAD Ouest, CHU d'Angers , Angers, France
8. , CLAD Ile de France, CHU de Paris Est , Paris, France
9. , CC AD Toulouse, CHU de Toulouse , Toulouse, France
10. , CC AD La Réunion, CHU de la Réunion , Saint-Denis, France
11. , CLAD Sud Languedoc Roussillon, CHU de Nîmes , Nîmes, France
12. , CC AD Toulon, CH de Toulon , Toulon, France
13. , CLAD Ouest, CHU de Nantes , Nantes, France
14. , CLAD Est, CHU de Strasbourg , Strasbourg, France
15. , CLAD Centre Est, CHU de Clermont-Ferrand , Clermont-Ferrand, France
16. , CLAD Est, CHU de Reims , Reims, France
17. , CLAD Sud Languedoc Roussillon, CHU de Montpellier , Montpellier, France
18. , CC AD Caen, CHU de Caen , Caen, France
19. , CLAD Ouest, CHU de Poitiers , Poitiers, France
20. , CLAD Sud PACA, CHU de Nice , Nice, France
21. , CLAD Ile de France, APHP Mondor , Créteil, France
22. , CLAD Ile de France, CHU Pitié-Salpêtrière , Paris, France
23. , CLAD Centre Est, CHU de Grenoble , Grenoble, France
24. , CLAD Ouest, CHU de Vannes , Vannes, France
25. , CLAD Est, CHU de Nancy , Nancy, France
26. , CLAD Ile de France, APHP Necker , Paris, France
27. , CLAD Nord, CHU de Lille , Lille, France
28. , CC AD Le Mans, CH Le Mans , Le Mans, France
29. , CLAD Nord, CHU d'Amiens , Amiens, France
30. , CLAD Ouest, CHU de Rennes , Rennes, France
31. , CLAD Ouest, CHU de Brest , Brest, France
32. , CLAD Sud PACA, CHU de Marseille , Marseille, France
33. , CC AD Antilles, CHU de Pointe à Pitre , Pointe à Pitre , France
34. , CLAD Ile de France, CHI de Poissy , Poissy, France
35. , CLAD Sud Languedoc Roussillon, CHU de Montpellier, Montpellier, France
36. , CLAD Centre Est, CHU de Saint-Etienne , Saint-Etienne, France
37. , CLAD Ouest, CHU de Tours , Tours, France
38. , CLAD Ile de France, APHP Robert-Debré, Paris, France
39. , CLAD Centre Est, CHU de Lyon , Lyon, France

**Mots clefs :** anomalies du développement, expertise pluridisciplinaire, coordination de la prise en charge

## Résumé :

**Introduction.** Les Anomalies du Développement (AD) sont un groupe de pathologies hétérogènes concernant toutes les spécialités médicales et tout âge. De nombreux professionnels sont impliqués dans leur prise en charge (PEC) médicale et non médicale. Une coordination de l'expertise pluridisciplinaire (EP) est essentielle pour assurer une PEC homogène et individualisée des patients. A ce jour, aucune étude n'a été publiée sur les modalités de coordination de l'EP des AD, en France ou à l'étranger. Nous avons réalisé 2 enquêtes nationales impliquant 8 Centres de références (CLAD) et 7 Centres de compétences (CC) au sein de la Filière AnDDI-Rares.

**Résultats.** 37 services de génétique sur tout le territoire national ont été contactés. Le taux de réponse a été de 100%. Plusieurs centres de génétique incluent au moins un médecin non généticien (35%) ou un professionnel non médical de santé (92%). Le délai d'obtention des rendez-vous de consultation médicale est > 2 mois dans 65% des cas, mais des consultations en urgence sont possibles (97%).

Concernant l'EP médicale, 79% des centres organisent des consultations pluridisciplinaires de diagnostic avec d'autres médecins spécialistes et/ou professionnels non médicaux. 70% des centres proposent des consultations de suivi génétique ciblées sur la coordination de la PEC des enfants contre 49% pour les adultes. 51% des centres organisent une consultation de transition à l'âge adulte. Afin d'améliorer l'accès aux soins, 59% des centres réalisent des consultations délocalisées. 92% des centres réalisent des staffs de discussion de dossiers (en interne/interrégional) avec la participation de médecins d'autres spécialités dans 81% des cas.

Concernant l'EP non médicale, dans 92% des sites un accompagnement psychologique est proposé : 68% des sites réalisent une consultation en binôme généticien/psychologue. Un conseiller en génétique est disponible dans 86% des centres. Les généticiens participent aussi à la coordination des interventions des professionnels non médicaux (orthophonistes, kinésithérapeutes, psychomotriciens), en prescrivant directement bilans et rééducations pour les enfants (48%) et les adultes (27%), ou après un avis neurologique. Ces résultats seront enrichis avec les données de la 2<sup>e</sup> enquête focalisée sur la PEC des syndromes polymalformatifs plus fréquents (Trisomie 21, 22q11DS ...).

**Conclusions.** Tous les services de génétique français proposent une approche multidisciplinaire aux AD. En plus des activités de diagnostic et conseil génétique, les CLAD/CC sont aussi impliqués dans la coordination de la PEC multidisciplinaire des syndromes polymalformatifs : en revanche, ils n'ont pas comme mission le suivi systématique de tous les patients atteints d'AD. Le délai d'obtention d'un rendez-vous reste long. L'organisation de la transition et la coordination de l'EP à l'âge adulte ne sont pas systématiques : avec les moyens actuels, une amélioration ultérieure de l'offre de soins reste cependant difficile.

## CONSEIL GÉNÉTIQUE, ÉTHIQUE ET PSYCHOLOGIE

### #3222 : Intérêt du dépistage moléculaire des ascendants directs asymptomatiques d'un patient porteur d'une mutation dans le gène *FBN1*.

#### Auteurs :

Maud LANGEOIS (1), Myrtille SPENTCHIAN (2), Nadine HANNA (3), Pauline ARNAUD (3), Laurent GOUYA (2), Bernard GRANDCHAMP (2), Olivier MILLERON (2), Guillaume JONDEAU (2), Catherine BOILEAU (3)

1. CNMR Syndrome de Marfan et apparentés, CHU BICHAT, Paris, France
2. CNMR Syndrome de Marfan et apparentés, CHU BICHAT, PARIS, France
3. Département de Génétique, CHU BICHAT, PARIS, France

**Mots clefs** : dépistage moléculaire des ascendants directs asymptomatiques

#### Résumé :

Au CNMR, l'étude de biologie moléculaire a été systématiquement réalisée lorsqu'elle était possible chez les parents, même asymptomatiques, de patients porteurs d'une mutation dans le gène *FBN1*. Nous avons évalué l'intérêt de cette pratique.

6430 patients ont été examinés avec réalisation d'une échographie cardiaque, d'un examen rhumatologique ou pédiatrique et d'un examen ophtalmologique. Le diagnostic de syndrome de Marfan a été posé selon les critères de Ghent I et II. L'étude moléculaire a été réalisée chez les patients suspects cliniquement de présenter un syndrome de Marfan et chez les apparentés d'un patient porteur de mutation dans le gène *FBN1*.

1458 patients atteints d'un syndrome de Marfan ont été diagnostiqués sur des critères cliniques et une mutation dans le gène *FBN1* a été mise en évidence chez 554 probands. L'enquête familiale a permis d'examiner un apparenté du premier degré pour 374 de ces probands.

- Dans la famille de 228 probands, plus d'un apparenté était atteint cliniquement (représentant donc 41% de formes familiales) et la biologie moléculaire a retrouvé une mutation *FBN1* chez 550 apparentés.
- Aucun des deux ascendants des 146 autres probands ne présentait d'atteinte clinique (représentant donc 26% de formes possiblement sporadiques). La biologie moléculaire a néanmoins été réalisée chez eux. Une mutation dans le gène *FBN1* a été retrouvée chez un des deux parents dans 7 cas (4.7% des familles sans signes cliniques chez les ascendants) : 3 cas de pénétrance incomplète (aucun signe clinique) et 4 cas de mosaïque somatique (quelques signes cliniques, insuffisants pour porter le diagnostic selon les critères internationaux). L'étude moléculaire des autres enfants de ces 7 familles (fratrie du proband) a permis de retrouver de 1 à 4 enfants porteurs de la mutation *FBN1* dans 4 familles (2.7 % des familles sans signes cliniques chez les ascendants).

Conclusion : Le dépistage moléculaire des ascendants directs d'un patient porteur d'une mutation *FBN1*, est positif dans 4.7% des cas en l'absence de signe clinique. Cette notion est fondamentale pour la prise en charge optimale de ces ascendants, ainsi que pour le conseil génétique du fait du risque de récurrence.

## CONSEIL GÉNÉTIQUE, ÉTHIQUE ET PSYCHOLOGIE

### #3281 : Bénéfices versus risques du traitement prénatal par dexaméthasone dans l'hyperplasie congénitale des surrénales : état des lieux actuel

#### Auteurs :

Véronique TARDY-GUIDOLLET (1), RITA MENASSA (1), PIERRE FOURNERET (2), BEHROUZ KASSAI-KOUPAI (3), DELPHINE BOULCH-MAUCORT (4), RAPHAEL FLEURY (5), SONIA GALETTI (3), NATHALIE TOUIL (3), CATHERINE MERCIER (4), CLAIRE-LISE GAY (6), DANIELA-BRINDUSA GORDUZA (7), PIERRE MOURIQUAND (7), CLAIRE BOUVATTIER (8), YVES MOREL (1)

1. Endocrinologie Moléculaire et Maladies Rares, GHE, BRON, France
2. Psychopathologies du développement, GHE, BRON, France
3. Centre d'Investigation Clinique, GHE, BRON, France
4. Service de Biostatistique, HCL, LYON, France
5. PAM de biologie, HCL, LYON, France
6. Endocrinologie Pédiatrique, HFME, BRON, France
7. Chirurgie Pédiatrique, HFME, BRON, France
8. Endocrinologie Pédiatrique, Hôpital Bicêtre, PARIS, France

**Mots clefs** : 21-hydroxylase, traitement prénatal, dexaméthasone, prise en charge prénatale, évaluation neurocognitive

#### Résumé :

La forme classique de déficit en 21-hydroxylase est responsable de la virilisation des organes génitaux externes chez les filles, avec un impact psychologique pour les parents et nécessité d'une chirurgie réparatrice avec des résultats à long terme discordants en terme de sexualité. Un traitement prénatal par Dexaméthasone (DEX) a été proposé en 1984 par l'équipe d'Endocrinologie Pédiatrique Lyonnaise pour empêcher l'hypersécrétion d'androgènes fœtaux chez les filles atteintes et la virilisation des organes génitaux externes. L'écueil principal du traitement par DEX est que 7 fœtus sur 8 sont traités à tort (filles non atteintes et garçons).

La prise en charge des grossesses à risque de forme classique de déficit en 21-hydroxylase a été optimisée depuis 2002 avec la validation de la détermination précoce du sexe fœtal dans le sang maternel (test SRY) dès 4.5 SG (ou 6.5 SA) afin de ne plus traiter les garçons. Chez les filles, la DEX est démarrée avant le développement du bourgeon génital, soit 6 SG. Un diagnostic prénatal précoce sur ponction de villosités chorales est réalisé vers 10-11 SG, avec maintien de la DEX jusqu'à la naissance en cas de fille atteinte et arrêt en cas de fille saine.

Le traitement par DEX a été soutenu en France, en Europe et aux USA face aux bénéfices apportés, sans effets secondaires notoires décrits. Il a été récemment remis en cause suite à des études chez l'animal décrivant une possible atteinte de l'hippocampe, ce à des doses de DEX très importantes. Les résultats obtenus chez les enfants ne sont pas concordants entre les équipes. Une équipe suédoise a mis en évidence en 2007 des possibles effets secondaires neurocognitifs chez une petite cohorte d'enfants (garçons et filles) non atteints et traités, sans modification du QI et des performances scolaires mais avec de discrètes anomalies cognitives de mémoire de travail verbal à court terme. Ces mêmes enfants décrivaient plus d'anxiété avec manque de confiance en eux. En 2015, la même équipe ne confirmait ces résultats que chez les filles. Une équipe américaine n'a pas confirmé ces résultats sur une importante cohorte d'enfants non atteints traités mais seulement un léger ralentissement de la vitesse de traitement de données chez les filles atteintes traitées toute la vie fœtale.

Les données publiées étant insuffisantes et contradictoires entre les équipes, il était nécessaire de réaliser une étude sur la cohorte des enfants traités en France. Un PHRC national coordonné par notre laboratoire et associant les endocrino-pédiatres des centres de référence et de compétence et des psychologues des centres de pédopsychiatrie, va s'intéresser au développement neurocognitif des enfants traités par DEX *in utero*. L'objectif principal est d'étudier les enfants non atteints et les objectifs secondaires permettront de déterminer les bénéfices du traitement par DEX chez les patients (notamment par diminution de l'hyperandrogénie cérébrale pendant la vie fœtale).

## CONSEIL GÉNÉTIQUE, ÉTHIQUE ET PSYCHOLOGIE

### #3295 : Séquençage génétique : un nécessaire partage des concepts et enjeux, entre associations de malades et chercheurs

#### Auteurs :

Marion MATHIEU (1), Perrine MALZAC (2), François FAURISSON (3)

1. Pôle Associations de Malades, Tous Chercheurs, Marseille, France
2. Département de génétique clinique Hôpital Timone enfants , AP-HM, Marseille, France
3. Mission Inserm Associations, Inserm, Paris, France

**Mots clefs** : Séquençage génétique, tests génétiques, associations de malades, formation, clés de compréhension, éthique, étude de cas, interactivité, Inserm, Tous Chercheurs, AP-HM

#### Résumé :

Les collaborations entre chercheurs et associations de malades ont aujourd'hui bien montré leur intérêt pour les deux parties. Pour autant, pour que ces échanges soient fructueux, il est indispensable que représentants d'associations et chercheurs partagent, sans ambiguïté, concepts et vocabulaire. Dans cet objectif, la Mission Inserm Association propose depuis plus de dix ans des formations, les Séminaires Ketty Schwarz, abordant les clés de compréhension dans divers domaines transversaux choisis par les associations, allant des essais cliniques à la vaccination. Ces formations, d'une journée, regroupent en présentiel, une vingtaine de représentants associatifs par session.

A la demande d'associations, le dernier séminaire aborde : "Tests et séquençage génétiques, que disent-ils, que prédisent-ils?", le programme ayant été établi par un comité éditorial (incluant chercheurs, praticiens en génétique et sciences sociales, et représentants associatifs). Cette formation, élaborée par "Tous Chercheurs", est animée par deux formatrices, l'une, scientifique spécialisée dans la vulgarisation scientifique, l'autre, généticienne impliquée dans le champ de l'éthique. Quatre sessions sont planifiées entre octobre et décembre 2015.

La formation est organisée selon un schéma interactif, combinant la présentation des notions de bases de génétique et des techniques associées, à l'étude de cas cliniques. Une évaluation succincte des notions déjà connues des participants est faite en amont. Une évaluation des concepts appris et des connaissances acquises, ainsi que de l'intérêt d'une telle formation, est recueillie à l'issue de la journée. Nous rapporterons l'ensemble des constats faits lors de la formation et après analyse des données des évaluations.

En première approche, il apparaît que si les notions de "maladie génétique", "chromosome", "gène" sont connues de la majorité des participants, d'autres comme "maladie monogénique versus multifactorielle", "génotype versus phénotype", "mutation pathogène, variant et polymorphisme" méritent d'être clarifiées. Concernant la pratique des tests génétiques, les échanges ont pour but d'appréhender, en commun, autour de situations concrètes, les conditions nécessaires à la communication des résultats de séquençage (notamment les résultats inattendus ou incertains), ainsi que les enjeux déontologiques et éthiques à prévoir lors du recueil du consentement. Ils permettent d'anticiper des situations, jusque-là inconnues, que le progrès des connaissances pourrait générer, telle l'émergence de résultats inattendus, issus de la réinterprétation de données acquises plusieurs années auparavant ou les possibilités d'usage de ces tests en situation de prévention.

En contribuant à la diffusion de concepts habituels aux chercheurs, cette formation favorise des coopérations éclairées avec des associations de malades tout en luttant contre la méfiance voire la défiance du public à l'égard des avancées de la génétique.

## CONSEIL GÉNÉTIQUE, ÉTHIQUE ET PSYCHOLOGIE

**#3307 : Faut-il mettre en place une consultation avant le dépistage non invasif sur ADN foetal dans le sang maternel : l'expérience du CHI de Poissy St Germain en Laye.**

### Auteurs :

Cécile OHEIX (1), Bérénice HERVE (1), Denise MOLINA GOMES (1), François VIALARD (1)

1. Unités de Génétique médicale et Cytogénétique, CHI Poissy/Saint Germain en Laye, POISSY, France

**Mots clefs :** DPNI, trisomie 21, conseil génétique

### Résumé :

**Introduction :** Depuis janvier 2015, nous avons mis en place une consultation, réalisée par un cytogénéticien ou un conseiller en génétique, avant la réalisation du dépistage non invasif de la trisomie 21 (DPNI) sur l'ADN foetal circulant dans le sang maternel. Elle a pour but d'expliquer aux patientes le test et de les informer sur les alternatives possibles, notamment la réalisation d'un diagnostic prénatal (DPN) par un prélèvement invasif (biopsie de trophoblaste ou amniocentèse). L'objectif secondaire est de connaître les raisons pour lesquelles ces patientes désirent réaliser ce test. Nous rapportons ici notre expérience.

**Matériels et méthodes :** Toutes les patientes dont le fœtus présente un signe d'appel échographique ou ayant un risque au résultat du dépistage combiné du 1<sup>er</sup> ou 2<sup>ème</sup> trimestre de la grossesse supérieur à 1/10 justifiant un diagnostic prénatal invasif sont récusées et donc non reçues. 244 patientes, accompagnées ou non de leur conjoint, ont été reçues entre 25 et 45 minutes. Durant l'entretien, différentes données sont colligées :

- l'indication du DPNI
- le nombre de grossesse antérieure
- le terme de la grossesse et l'origine de la conception
- le poids et la taille
- la consommation de tabac

Cette consultation permet d'aborder différents items comme :

- les avantages/inconvénients du DPNI versus DPN avec notamment un accent porté sur les notions de dépistage et de diagnostic, et le risque de fausse couche
- l'explication des faux positifs et faux négatifs de la technique, ainsi que le risque de non réponse en cas d'échec de la technique
- l'indication du DPNI
- le risque de découvrir une particularité maternelle

**Résultats :** 7.8% des patientes ont changé d'avis à la suite de cette consultation. Les taux varient selon les indications : de 0% (patientes avec une grossesse gémellaire ou un âge supérieur à 38 ans) à 18.2% (patientes avec un antécédent d'aneuploïdie). Parmi ces patientes 28% ont opté pour le DPN et 62% pour ne rien faire. Le terme moyen de la grossesse des patientes lors de la consultation est de 17SA+3 pour un âge moyen de 36 ans et 7 mois et un BMI avant grossesse à 23.2.

**Discussion :** Environ 8% des patientes ont finalement décidé de ne pas réaliser le DPNI. Le choix de réaliser le DPN a été motivé par l'avantage d'obtenir un diagnostic de certitude et une l'analyse de l'ensemble des chromosomes. Le choix de ne pas entreprendre d'investigations supplémentaires a été la décision des couples conservateurs de la grossesse quelque soit le résultat ou des couples rassurés par cette discussion avec un professionnel de génétique.

**Conclusion :** Il nous semble que cette consultation soit incontournable, afin que le choix des couples soit libre et éclairé. Elle a principalement un impact sur la décision final des patientes à risque ou ayant eu un antécédent d'aneuploïdie. Cette consultation devrait idéalement être mise en place dès la réalisation des marqueurs sériques afin de discuter en amont du choix entre DPN/DPNI.

#3374 : Etude des mosaïques parentales par séquençage profond dans le syndrome de Dravet

**Auteurs :**

Caroline Nava (1), Lies Van de Velde Boermans (2), Delphine Bouteiller (3), Yannick Marie (3), Christel Depienne (1), Eric Leguern (1)

1. Département de Génétique - ICM Inserm U1127 - CNRS 7225 -UPMC, GH Pitié-Salpêtrière, Paris, France

2. Département de Génétique, GH Pitié-Salpêtrière, Paris, France

3. Institut du Cerveau et de la Moelle épinière, Plateforme de Génotypage et Séquençage, GH Pitié-Salpêtrière, Paris, France

**Mots clefs :** mosaïque, SCN1A, syndrome de Dravet, conseil génétique, séquençage de nouvelle génération

**Résumé :**

Le syndrome de Dravet, ou encéphalopathie myoclonique sévère du nourrisson, est une pathologie développementale caractérisée par une épilepsie pharmaco-résistante, sensible à la fièvre, débutant dans la première année de vie, d'évolution sévère et associé à un retard cognitif. Le gène majeur de cette pathologie est le gène *SCN1A*, muté chez 70% des patients. Dans la plupart des cas, les patients atteints sont des cas sporadiques et les mutations de *SCN1A* surviennent *de novo*, i.e. sont présentes chez l'enfant atteint et absentes chez les parents. En raison de la sévérité de cette pathologie et de la possibilité d'une mosaïque germinale, les couples demandent souvent la réalisation d'un diagnostic prénatal (DPN) pour les grossesses ultérieures. Des travaux précédents de notre équipe ont montré que des mosaïques parentales étaient détectables par séquençage Sanger dans 5% des cas. Cependant, les mosaïques faibles (i.e. inférieure à 15%), ne sont pas visibles par la technique de Sanger. La fréquence des mosaïques parentales est donc vraisemblablement sous-estimée.

Dans cette étude, nous avons évalué la fréquence des mosaïques parentales par séquençage profond à partir d'une grande cohorte de patients porteurs de mutations de *SCN1A* considérées jusqu'à présent comme *de novo*. Cent quatorze trios ont été analysés par séquençage profond sur GSJunior (Roche), permettant une couverture de 1000X en moyenne. Quatre cas de mosaïque parentale ont été identifiés (environ 4%). Le taux de mosaïque dans le sang était compris entre 0,3 et 8%. Un séquençage très profond (5000X) a confirmé ces mosaïques dans les 3 cas pour lesquels nous disposions de suffisamment d'ADN.

Le taux de mosaïque parentale lors d'une mutation *a priori de novo* de *SCN1A* est donc d'au moins 9%, visible en Sanger dans 5% des cas et uniquement par séquençage profond dans 4% des cas. Ces résultats permettent d'améliorer le conseil génétique en identifiant mieux les couples ayant un risque de récurrence pour une future grossesse ; cependant les taux de mosaïque très faible (de l'ordre de 1 pour mille) ou de mosaïque uniquement germinale ne sont pas détectés par cette technologie. Le DPN reste donc indiqué également pour les couples sans mosaïque identifiée qui en feraient la demande.

## CONSEIL GÉNÉTIQUE, ÉTHIQUE ET PSYCHOLOGIE

### #3439 : Création d'un Centre de Ressources Psychologiques au sein d'une Filière Nationale de Santé

#### Auteurs :

Marie-Lise Babonneau (1), Claire-Cécile Michon (1), Zoé Fertier (1), Vincent Probst (2), Philippe Chevalier (3), Philippe Charron (1)

1. Filière Nationale de Santé Cardiogen, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Paris, France
2. Institut du thorax, Centre de référence pour les maladies rythmiques héréditaires, Centre Hospitalier Universitaire, Nantes, France
3. Centre de référence des troubles du rythme cardiaque d'origine héréditaire, Hospices Civiles de Lyon, Lyon, France

#### Résumé :

Contexte : La Filière Cardiogen souhaite contribuer à faire reconnaître l'importance de la dimension psychique dans les maladies cardiaques héréditaires, concourir à son intégration dans la prise en charge globale des patients et œuvrer à l'égalité d'accès à une consultation psychologique sur l'ensemble du territoire. Actuellement une hétérogénéité d'accès importante est observée : délais d'attente dans les structures publiques, offre inégale de soins dans le secteur libéral et fréquente méconnaissance des pathologies prises en charge au sein de la Filière. La Filière a donc mis en place, pendant l'été 2015, un Centre de Ressources Psychologiques, coordonné par deux psychologues.

Objectifs : Les objectifs du Centre de Ressources Psychologiques sont : 1- de compléter les dispositifs existants par le développement et la coordination d'un réseau national de psychologues et psychiatres sensibilisés aux problématiques des maladies cardiaques héréditaires, 2- de faciliter l'accès de tous à une aide psychologique de proximité, rapide et adaptée aux problématiques spécifiques de ces maladies, 3- de contribuer à l'harmonisation des pratiques des psychologues au sein des consultations spécialisées.

Missions : Les missions du Centre sont : 1- la création d'un annuaire national de professionnels (psychologues et psychiatres) sensibilisés aux problématiques des maladies cardiaques héréditaires, 2- l'orientation des personnes concernées vers l'un de ces professionnels de proximité, 3- la formation des professionnels de santé, 4- l'appui à tout professionnel de terrain ou membres des associations confrontés à une situation complexe, 5- la coordination de groupes de travail des psychologues des consultations spécialisées (services de cardiologie, génétique, etc.) pour contribuer à l'harmonisation des pratiques, 6- la diffusion de veilles bibliographiques aux membres du réseau, 7- l'aide à l'élaboration de journées d'information, la rédaction de documents ou la mise en place de projets de recherche.

Quelques chiffres : Entre juin et octobre 2015, le Centre a reçu 63 demandes dont 48 % d'entre elles émanent d'associations, 29 % de patients et 23 % de professionnels de santé. L'objet de ces demandes est divers (orientation vers un psychologue, conseil auprès d'associations dans l'élaboration de documents d'informations et la conception de journées à destination des familles et des professionnels, appui aux professionnels confrontés à une situation complexe, discussions autour de projets de recherche).

Conclusion : en quelques mois, le nombre et la nature des demandes adressées aux psychologues coordinatrices confirment l'intérêt et la pertinence de la mise en place du Centre de Ressources Psychologiques. Ces demandes témoignent de la nécessité d'accroître l'offre en accompagnement psychologique et des besoins en coordination de l'offre existante.

#3467 : Devenir mère avec une déficience intellectuelle

**Auteurs :**

Isabelle MAREY (1), Sophie DUPONT (2), Delphine HERON (1), Marcela GARGIULO (3)

1. Génétique Clinique, Centre de référence déficience intellectuelle de causes rares, Groupe Hospitalier Pitié Salpêtrière, paris, France
2. Neurologie, Groupe Hospitalier Pitié Salpêtrière, Paris, France
3. Laboratoire de Psychologie Clinique, Psychopathologie, Psychanalyse (EA 4056), Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, Paris, France

**Mots clefs :** Déficience intellectuelle, parentalité

**Résumé :**

Devenir mère avec une déficience intellectuelle interroge : la parentalité nécessite des réaménagements psychiques et affectifs considérables, et implique de répondre de manière appropriée et constante aux besoins de l'enfant à trois niveaux : les soins corporels, affectifs et psychiques. Dans le cas d'une femme avec une déficience intellectuelle, la première interrogation concerne sa capacité à donner à l'enfant la sécurité de base nécessaire, et un cadre de vie « suffisamment bon » pour qu'il puisse grandir avec un sentiment continu d'exister (Winnicott , 1923). Ce d'autant que la future mère peut se trouver elle-même en situation de dépendance vis à vis d'un tiers pour parvenir à vivre de manière plus au moins autonome.

Nous rapportons le cas de Madame X orientée en consultation de génétique dans le cadre d'un désir de grossesse. Il s'agit d'une patiente de 35 ans, mariée, présentant Sclérose tubéreuse de Bourneville caractérisée par une déficience intellectuelle légère et une épilepsie pharmaco-résistante sous quadrithérapie. La consultation de génétique permet initialement d'informer la patiente sur le risque de transmission génétique de sa pathologie à sa descendance, et également sur les risques qu'une grossesse pourrait entraîner sur son état de santé. Mais la question de sa capacité à prendre une décision éclairée et autonome pour une éventuelle grossesse, indépendamment de l'influence de sa famille (et notamment celle de sa mère qui l'accompagne à chaque consultation) est abordée permettant progressivement une écoute attentive de son projet d'accéder à la parentalité, élaboré avec une équipe pluridisciplinaire médicale et paramédicale.

L'analyse de la littérature sur le sujet montre qu'un changement notable sur la question de la parentalité des personnes en situation de déficience intellectuelle s'est effectué depuis les années 2000. Désormais, l'accent n'est pas seulement mis sur les difficultés des mères, en particulier à comprendre la portée de leurs gestes, leurs attitudes ou l'absence de réponse adaptée aux besoins de leurs enfants. Des nouvelles perspectives émergent, notamment avec la mise en place de programmes pour promouvoir les habilités parentales des personnes avec une déficience intellectuelle, dans le but de leur permettre de s'épanouir dans leur rôle de mères lorsqu'elles bénéficient de services éducatifs adaptés à leurs besoins, laissant ainsi un champ ouvert à l'accompagnement des futurs parents dans l'accès à la parentalité. (*Coppin et al, 2005*)

Ce cas clinique nous permet d'aborder les questionnements majeurs sur le plan médical, psychologique et éthique qui pourront servir de base à une réflexion sur l'accompagnement médico-social des patientes avec une déficience intellectuelle dans leur projet de devenir parents.

## CONSEIL GÉNÉTIQUE, ÉTHIQUE ET PSYCHOLOGIE

### #3485 : Evolution de la démographie des internes du DES de génétique médicale depuis la mise en place de la filiarisation en 2010

#### Auteurs :

Elodie LACAZE (1), Solveig HEIDE-GUIHARD (2), Damien SANLAVILLE (3)

1. Service de génétique , Centre Hospitalier Jacques Monod, Le Havre, France
2. UF de génétique clinique, département de génétique , Groupe hospitalier Pitié Salpêtrière, APHP, Paris, France
3. Service de génétique , Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

**Mots clefs :** DES de Génétique médicale, démographie, exercice de la génétique, formation

#### Résumé :

Depuis 2010 et la mise en place de la filiarisation, les internes choisissent directement leur spécialité médicale ou chirurgicale à l'issue de l'examen national classant. Ainsi, le nombre de postes ouverts pour la génétique médicale est désormais prédéfini, alors qu'auparavant le nombre d'internes entrant dans cette spécialité dépendait d'une part du souhait des internes et d'autre part de l'organisation dans chaque ville.

La conséquence principale est une très forte augmentation du nombre d'internes en génétique médicale depuis 2010. Ainsi, par exemple, en 2009 seulement 2 internes sont entrés dans la formation, contre 15 en 2010. En septembre 2015, il y avait 83 internes en formation toutes promotions confondues. Ceci s'explique par le fait qu'il y a eu 96 postes d'internes de génétique médicale en France depuis 2010, soit en moyenne 19 par an. Les postes ont été répartis sur tout le territoire.

La spécialité étant méconnue des internes au moment des choix à l'issue de l'examen national classant, le nombre de droits au remord vers une autre spécialité est important, 15 sur 96 postes ouverts au total, soit 15,6% sur la période de choix 2010-2014. Le nombre d'internes ayant fait un droit au remord vers la génétique médicale est de 2 sur la même période. Le taux de droit au remord pour la génétique est plus important que pour les autres spécialités médicales (15,6 % contre 7,3 % en moyenne). Cela s'explique probablement par le fait que la spécialité est méconnue des étudiants au moment des choix à l'issue des ECN. En effet, il y a peu de stages d'externes dans les services de génétique, ce qui fait que les étudiants n'ont pas l'occasion de découvrir la spécialité avant l'internat.

Actuellement les internes en cours de formation ont la possibilité de s'orienter vers la clinique et/ou la biologie (cytogénétique ou biologie moléculaire). La très grande majorité des internes réalisent un Master 2. Ainsi, dans la promotion 2010, 1 interne sur 11 seulement n'a pas fait de Master 2.

Il faut donc s'attendre à une forte augmentation du nombre de praticiens en génétique formés en France et cela rapidement, ce qui amène à réfléchir sur la diversification des modes d'exercices, notamment en dehors des centres hospitaliers universitaires et ce d'autant que les champs d'application de la génétique vont s'élargir avec l'arrivée de la médecine personnalisée.

## CONSEIL GÉNÉTIQUE, ÉTHIQUE ET PSYCHOLOGIE

### #3589 : Diagnostic de la polykystose rénale autosomique récessive chez un couple marocain consanguin et identification d'une nouvelle mutation du gène PKHD1

#### Auteurs :

Wafaa Jdioui (1), Wafaa Jdioui (1), Abdelali Zrhidri (1), Lamia Boualla (1), Laurence Michel-Calemard (2), Abdelaziz Sefiani (1)

1. Centre de génomique humaine, Faculté de médecine et de pharmacie, Université Mohammed V Souissi, Rabat, Maroc
2. service d'Endocrinologie Moléculaire et Maladies rares, Centre de biologie et de Pathologie est , Lyon, France

**Mots clefs :** Polykystose rénale, gène PKHD1, nouvelle mutation, séquençage haut débit, conseil génétique

#### Résumé :

La polykystose rénale autosomique récessive est une maladie héréditaire rare dont la prévalence est estimée à 1 enfant sur 40 000. Elle est due au développement de kystes rénaux aux dépens du tube collecteur associés à une atteinte hépatique. Le gène en cause dans la maladie, *PKHD1*, comporte 67 exons et code pour la fibrocystine ou polyductine.

Nous rapportons l'observation d'un couple marocain consanguin premier degré, ayant perdu son unique enfant, de sexe féminin, à H3 de vie dans un tableau d'insuffisance respiratoire.

Un diagnostic échographique anténatal de gros reins kystiques avec oligoamnios avait été posé à 5 mois de grossesse. La grossesse avait été poursuivie et l'enfant est née à 35 SA. Il n'y a pas eu d'examen foetopathologique ni de conservation de matériel fœtal.

Le séquençage du gène *PKHD1* par la méthode haut débit, effectué sur l'ADN des parents, a permis de mettre en évidence une nouvelle mutation faux sens, à l'état hétérozygote, à caractère pathogène selon l'analyse in Silico. Il s'agit de la mutation p.Tyr221Cys, localisée dans l'exon 9. Ce résultat a permis de s'orienter vers le diagnostic de polykystose rénale autosomique récessive chez l'enfant décédée, qui devait être homozygote. Un conseil génétique adéquat a été prodigué au couple. Nous avons également pu proposer la réalisation d'un diagnostic prénatal précoce lors des futures grossesses.

**#3625 Préoccupations sur l'ingénierie ciblée du génome touchant à la lignée germinale humaine**

Auteurs :

A Cambon-Thomsen<sup>1</sup>, A Blasimme<sup>1</sup>, J De Vos<sup>2</sup>, A Dubart-Kupperschmitt<sup>3</sup>, M Fellous<sup>4</sup>, J Steffann<sup>5</sup>, M Thomsen<sup>1</sup> (pour un groupe de travail SFGH – Société française de génétique humaine et SFTCG – Société française de thérapie cellulaire et génique)

1) Inserm UMR1027, Toulouse; 2) Inserm U1183, Montpellier; 3) Inserm U1193, Villejuif; 4) Inserm U1016, Paris; 5) Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris.

**Résumé :**

L'ingénierie ciblée du génome ou «genome editing» fait référence aux techniques permettant des modifications précises et spécifiques du génome d'organismes vivants. Des technologies récentes basées sur l'utilisation de CRISPR/Cas9 ou systèmes équivalents accroissent la précision de la correction ou de l'insertion de séquences d'ADN dans le génome. Les applications en santé humaine sont très prometteuses. Des mutations délétères pourraient être corrigées, des séquences virales persistantes indésirables éliminées et la production de protéines thérapeutiques rendue possible. Plus récemment des préoccupations se sont fait jour à cause de la possibilité d'utilisation potentielle des techniques d'ingénierie ciblée du génome pour modifier la lignée germinale humaine via des changements opérés sur l'embryon humain. Une équipe Chinoise (Liang et al, Protein Cell 6:363, 2015) a par exemple publié une modification du gène de la  $\beta$ -globine dans des zygotes humains tri-pronucléaires, afin d'éviter la  $\beta$ -thalassémie. Le projet avait été approuvé par le comité d'éthique de l'hôpital concerné et les donneurs avaient été informés et avaient donné leur consentement. Cet article a lancé un débat international. Seuls des zygotes non viables ont été inclus dans cette étude. Les conclusions montrent la faisabilité technique de cette approche mais soulignent également une efficacité et une sécurité insuffisantes. Cependant il ne peut pas être exclu que cette expérience et l'explosion de ce domaine de recherche ouvrent la voie de la réalisation de telles manipulations sur des embryons vivants viables, introduisant volontairement une modification de la lignée germinale humaine, ce qui est peut être autorisé dans certains pays mais interdit par la Convention d'Oviedo du Conseil de l'Europe (Art. 13), ratifiée en 2011 par la France. La Société française de génétique humaine (SFGH) et la Société française de thérapie cellulaire et génique ont conjointement établi un groupe de travail sur cette question, afin d'analyser la situation scientifique, d'envisager une position commune par rapport à la recherche, aux potentielles applications thérapeutiques de ce domaine et aux applications non thérapeutiques qui viseraient à modifier un individu. D'autres initiatives en France et ailleurs sont en cours sur ces questions. Les premiers travaux de ce groupe ont été discutés lors d'une réunion sous l'égide de la SFGH à Toulouse en décembre 2015 et certains éléments publiés (Blasimme et al. Am J Bioeth. 2015 Dec;15(12):54-7). Nous décrivons ici les termes du débat éthique.

## CYTOGÉNÉTIQUE ET REMANIEMENTS CHROMOSOMIQUES

### #2295 : A propos d'un cas de syndrome de Saethre –Chotzen

#### Auteurs :

BELAID AIT ABDELKADER (1), AMMAR CHIKOUCHE (2), MERIEM AMINA GHOUALI (3)

1. Laboratoire de cytogénétique constitutionnelle du centre Pierre et Marie Curie Alger., CHU Centre pierre et marie curie , ALGER, Algérie
2. laboratoire de biochimie , CHU Centre pierre et marie curie , Alger, Algérie
3. Array, Array, Array, France

**Mots clefs :** Caryotype ,FISH, syndrome de Saethre –Chotzen

#### Résumé :

le syndrome de saethre –chotzen a été diagnostique pour un seul de nos patient depuis le début de notre activité en 2007. Il s'agit de l'enfant R. R âgé de 6ans, deuxième d'une fratrie de 3 garçons pas de notion de consanguinité familiale et ne présentant aucun d'antécédent pathologique prénatal, ni néonatal cet enfant chez qui le développement psychomoteur s'est fait avec retard (maintien de la tête à plus de de 3mois ,position assise à 9 mois , marche à 19 mois , début du langage à 2 ans et demi à peine 5 mots ,actuellement langage pauvre et mal articulé ,l'enfant R présente une hyperactivité ,et des difficultés de concentration.

Les mains sont courtes avec une syndactylie moyenne des 3eme et 4eme doigts A l'examen nous retrouvons une craniosténose coronale unique et une dysmorphie avec, un hypertélorisme, un ptosis, implantation basse des cheveux, oreilles petites et mal ourlées et un prognathisme, pommettes saillantes, joues tombantes nez retroussé, narines antéversées.

des deux mains, les orteils sont aussi affectés, on ne retrouve pas de pli palmaire chez cet enfant.

Nous retrouvons un retard mental modéré QI: 42 retard mental moyen (ECHELLE DE WECHSLER DSM IV).

devant cette dysmorphie non évocatrice d'un syndrome évident nous avons réalisé une étude cytogénétique dont l'analyse caryotypique ne montre aucune anomalie , mais devant cette dysmorphies non évocatrice d'un quelconque syndrome nous avons opéré par réaliser des hybridations in situ en évoquant les différents syndromes qui peuvent présenter certains de ces signes clinique entre autre l'utilisation de la sonde correspondante a la région 7q21.1 explorant le gène SCS qui a permis de montrer une délétion de cette région confirmant ainsi le syndrome de saethre –chotzen.

---

POSTERS

CYTOGÉNÉTIQUE ET REMANIEMENTS CHROMOSOMIQUES

---

## CYTOGÉNÉTIQUE ET REMANIEMENTS CHROMOSOMIQUES

#2336 : Etude cytogénétique du syndrome de down et aspects épidémiologiques et cliniques chez nos patients

### Auteurs :

BELAID AIT ABDELKADER (1), AMMAR CHIKOUCHE (2), ABDENOUR HOUAS (1), MERIEM AMINA GHOUALI (3), ABDENOUR HOUAS (1)

1. Laboratoire de cytogénétique constitutionnelle du centre Pierre et Marie Curie Alger., CHU Centre pierre et marie curie , ALGER, Algérie
2. laboratoire de biochimie , CHU Centre pierre et marie curie , Alger, Algérie
3. Array, Array, Array,

**Mots clefs :** syndrome de down, caryotype ,FISH

### Résumé :

La trisomie 21 est une maladie congénitale, liée à une aberration chromosomique, en l'occurrence à un chromosome 21 surnuméraire, entier ou partiel. [1]

Depuis la première description, les travaux de recherche sur cette pathologie se sont poursuivis dans les domaines de la mécanique génétique, des méthodes diagnostiques et des moyens thérapeutiques.

Cette prévalence augmente exponentiellement avec l'âge maternel [2].

Dans notre étude, L'étude a porté sur 275 patients présentant des signes cliniques évoquant le syndrome de down.

Pour tous ces patients une analyse cytogénétique par caryotype et parfois la FISH est réalisée et a retrouvé un chromosome 21 surnuméraire secondaire aux différents mécanismes pathologiques de remaniement chromosomiques.

Ce nombre de trisomie 21 dont le diagnostic clinique est souvent a nécessité une confirmation cytogénétique du diagnostic afin de proposer un conseil génétique fiable.

**Auteurs :**

Claude Stoll (1), Claude Stoll (1), Yves Alembik (1), Béatrice Dott (2)

1. Service de Génétique Médicale, Faculté de Médecine, Strasbourg, France
2. Service de Génétique Médicale, Faculté de Médecine, strasbourg, France

**Mots clefs :** Cardiopathies congénitales, Down syndrome, étiologie, surveillance, trisomy 21

**Résumé :**

Down syndrome (DS) is the most common congenital anomaly widely studied for at least 150 years. However, the type and the frequency of congenital anomalies associated with DS are still controversial. Despite prenatal diagnosis and elective termination of pregnancy for fetal anomalies, in Europe, from 2008 to 2012 the live birth prevalence of DS per 10,000 was 10. 2. The objectives of this study were to examine the major congenital anomalies occurring in infants and fetuses with Down syndrome. The material for this study came from 402,532 consecutive pregnancies of known outcome registered by our registry of congenital anomalies between 1979 and 2008. Four hundred sixty seven (64%) out of the 728 cases with DS registered had at least one major associated congenital anomaly. The most common associated anomalies were cardiac anomalies, 323 cases (44%), followed by digestive system anomalies, 42 cases (6%), musculoskeletal system anomalies, 35 cases (5%), urinary system anomalies, 28 cases (4%), respiratory system anomalies, 13 cases (2%), and other system anomalies, 26 cases (3.6%). Among the cases with DS with congenital heart defects, the most common cardiac anomaly was atrioventricular septal defect (30%) followed by atrial septum defect (25%), ventricular septal defect (22%), patent ductus arteriosus (5%), coarctation of aorta (5%), and tetralogy of Fallot (3%). Among the cases with DS with a digestive system anomaly recorded, duodenal atresia (67%), Hirschsprung disease (14%), and tracheo-esophageal atresia (10%) were the most common. Fourteen (2%) of the cases with DS had an obstructive anomaly of the renal pelvis, including hydronephrosis. The other most common anomalies associated with cases with DS were syndactyly, club foot, polydactyly, limb reduction, cataract, hydrocephaly, cleft palate, hypospadias and diaphragmatic hernia. Many studies to assess the anomalies associated with DS have reported various results. There is no agreement in the literature as to which associated anomalies are most common in cases with DS and associated anomalies. In this study we observed a higher percentage of associated anomalies than in the other reported series as well as an increase in the incidence of duodenal atresia, urinary system anomalies, musculoskeletal system anomalies, and respiratory system anomalies, and a decrease in the incidence of anal atresia, annular pancreas, and limb reduction defects. In conclusion, we observed a high prevalence of total congenital anomalies and specific patterns of malformations associated with Down syndrome which emphasizes the need to evaluate carefully all cases with Down syndrome for possible associated major congenital anomalies.

## CYTOGÉNÉTIQUE ET REMANIEMENTS CHROMOSOMIQUES

### #2366 : Evolution clonale et anomalies cytogénétiques défavorables détectées par FISH interphasique dans une série prospective de 138 nouveaux diagnostiques de myélomes multiples

#### Auteurs :

Thomas Smol (1), Sabine Tricot (2), Christine Pucalowski (3), Brigitte Dupriez (4), Pascal Huchette (5), Mathieu Wemeau (6), Franck Bernardi (7), Agnès Daudignon (1)

1. Laboratoire de Cytogénétique, CH de Valenciennes, Valenciennes, France
2. Service d'Hématologie, CH de Valenciennes, Valenciennes, France
3. Laboratoire d'Hématologie, CH de Lens, Lens, France
4. Service d'Hématologie, CH de Lens, Lens, France
5. Laboratoire d'Hématologie, CH de Arras, Arras, France
6. Service d'Hématologie, CH de Arras, Arras, France
7. Laboratoire d'Hématologie, CH de Douai, Douai, France

**Mots clefs :** Myélome Multiple, iFISH, Clones

#### Résumé :

**Introduction.** La cytogénétique conventionnelle n'est plus la technique appropriée pour la détection de marqueurs cytogénétiques dans le myélome multiple (MM). Le faible indice de prolifération des plasmocytes limite le recueil efficace de métaphases, et seuls 35% des patients présentent un caryotype anormal, très souvent associé à un stade avancé de la maladie. La FISH interphasique (iFISH) sur plasmocytes triés est désormais recommandée pour la détection des anomalies cytogénétiques. La iFISH n'étant pas un outil pangénomique, pour ce travail, nous avons donc analysé la présence d'anomalies défavorables ainsi que l'hétérogénéité clonale au diagnostic.

**Méthodes.** Entre janvier 2014 et juin 2015, les échantillons de 138 patients au diagnostic de MM ont été analysés par iFISH au laboratoire de cytogénétique du CH de Valenciennes. La iFISH a été réalisée après enrichissement en plasmocytes triés sur l'expression du CD138. Nous avons ciblé 4 anomalies cytogénétiques défavorables : la délétion de *P53* en 17p13, la translocation *t(4;14)(p16;q32) FGFR3-JH*, la délétion *1p32-CDKN2C*, et l'amplification de *1q21-CKS1B*. Les seuils de chaque sonde ont été déterminés par l'analyse des profils d'hybridations de plasmocytes triés obtenus chez des patients sans MM.

**Résultats.** La iFISH a permis d'identifier des anomalies pour 79,7% des patients avec une médiane de 2 anomalies par cas [1 à 6]. Nous avons détecté des marqueurs cytogénétiques défavorables chez 48,1% des patients dont la délétion *TP53* dans 14,6%, la *t(4;14)* dans 13,0%, l'amplification *1q21* dans 32,4% et la délétion *1p32* dans 11,0%. Une combinaison entre 2 ou 3 marqueurs défavorables a été observée dans 32,6% des cas, avec une association préférentielle entre la translocation *t(4;14)* et le gain *1q21* ( $P=.004$ ). De plus, la iFISH a permis de mettre en évidence une hétérogénéité clonale pour 35,3% des patients au diagnostic avec au moins 2 clones apparentés identifiés, et 80,8% de ces patients présentaient alors au moins un marqueur défavorable. L'hétérogénéité clonale était plus marquée dans les MM avec gain *1q21*, avec une moyenne supérieure de clones identifiés : 2,5 contre 2,0 en absence de gain *1q21* ( $P < .0001$ ).

**Conclusions.** La iFISH nous a permis de détecter les patients à haut risque cytogénétique, caractérisés par une combinaison entre au moins 2 marqueurs cytogénétiques défavorables. La iFISH a également confirmé que l'évolution clonale était un événement précoce dans la pathogénicité du MM, et qu'elle impliquait principalement le gain *1q21*.

## CYTOGÉNÉTIQUE ET REMANIEMENTS CHROMOSOMIQUES

#2397 : Intérêt de l'analyse combinée cytogénétique conventionnelle et moléculaire (FISH) dans la LLC

### Auteurs :

Amel Senouci (1), Thomas Smol (2), José Fernandes (3), Sabine Tricot (3), Christine Pucalowski (4), Laure Stalnikiewicz (5), Franck Bernardi (6), Agnès Daudignon (2)

1. Département de Biologie, Université de Sidi Bel Abbès, Sidi Bel Abbès, Algérie
2. Laboratoire de Cytogénétique, CH de Valenciennes, Valenciennes, France
3. Service d'Hématologie, CH de Valenciennes, Valenciennes, France
4. Laboratoire d'Hématologie, CH de Lens, Lens, France
5. Service d'Hématologie, CH de Lens, Lens, France
6. Laboratoire d'Hématologie, CH de Douai, Douai, France

**Mots clefs :** LLC, FISH, caryotype complexe, complexité clonale

### Résumé :

**Introduction.** Le bilan initial cytogénétique des LLC est effectué majoritairement au moment de l'aggravation des signes cliniques quand une thérapeutique est sur le point d'être proposée. La stratification repose en partie sur les données de la FISH interphasique (classification de Döhner) avec ou non un caryotype associé. Nous démontrons ici l'intérêt de combiner ces deux techniques qui offrent des informations complémentaires.

**Méthodes.** Nous avons analysé 330 patients atteints de LLC avant traitement entre 2009 et 2014 au laboratoire de cytogénétique du CH de Valenciennes. Les caryotypes ont été réalisés à partir de prélèvements sanguins en culture stimulée par l'IL2-DPS30. La FISH a été effectuée sur les mêmes échantillons avec les sondes couplées CEP12/D13S319/LAMP1 et ATM/P53 pour la recherche des marqueurs trisomie 12, délétion 13q14, délétion ATM et délétion p53 classiquement étudiés dans les LLC. Pour chaque patient les résultats de l'analyse FISH ont été comparés aux données du caryotype conventionnel.

**Résultats.** La cytogénétique classique permet d'obtenir un caryotype anormal (CA) dans 66,6% des cas. L'analyse FISH met en évidence au moins une anomalie dans 77,6% des cas. Nous retrouvons des délétions 13q14 dans 60,6% des cas, une trisomie 12 dans 18,2%, des délétions ATM dans 13,3%, et des délétions p53 dans 9,1%. Sur 219 CA, 26,9% sont complexes (CK) et 22,8% présentent d'emblée une évolution clonale. On distingue un sous groupe (7,7% des cas) où coexistent 3 ou plus clones apparentés ; dans 11 cas sur 17, un des clones présente plus de 3 anomalies. Ce groupe cumulant CK et complexité clonale (CC) n'est pas majoritairement associé à une délétion de p53 (7 patients sur 11). En présence d'une FISH normale (n=67), nous identifions 35,8% de CA dont 6,0% de caryotypes CK. En présence de délétions 13q14 monoalléliques isolées en FISH (27,9%), nous observons un CA dans 50,0% des cas dont 7,6% CK. Pour ces deux groupes FISH, les données du caryotype entraînent une bascule pronostique des groupes intermédiaires et favorables à défavorables.

**Discussion.** L'analyse combinée caryotype/FISH ciblée dans la LLC montre que le caryotype reste un outil pangénomique identifiant un taux non négligeable de CA dont 6 à 7% de CK en l'absence d'anomalie FISH ou en présence d'anomalies FISH isolées de bon pronostic. La FISH reste indissociable du caryotype conventionnel identifiant les anomalies cryptiques. La délétion de p53, bien que associée au CK ( $P=0.0006$ ), n'est pas systématiquement retrouvée dans le groupe de patient CK/CC. Il semble indispensable de demander une recherche de mutation p53 devant ce type de présentation. Enfin, la recherche de délétion 13q14 et de trisomie 12 par FISH, déjà controversée, ne semble plus être d'intérêt quand un caryotype peut être envisagé. La FISH ciblée sur les marqueurs ATM et p53 reste, elle indispensable.

## CYTOGÉNÉTIQUE ET REMANIEMENTS CHROMOSOMIQUES

### #2405 : Microdélétion Xq28 impliquant les gènes MECP2 et FLNA à l'origine d'un syndrome de Rett et hétérotopie périventriculaire

#### Auteurs :

Abdelkrim SAADI (1), saadia LOUGANI (1), Amina BENHADDADI (1), Belaid AIT ABDELKADER (2), Belaid IMESSAOUDENE (3), Farida FERRAT (1), Arnold MUNNICH (4), Malika CHAOUCH (1), Athmane CHAOUCH (5), Jean Paul BONNEFONT (6), Myriam ABADA-BENDIB (1)

1. neurologie, etablissement hospitalier specialise de Ben-aknoun, ALGEIRS, Algérie
2. laboratoire de cytogenetique , Centre Pierre Marie Curie, ALGEIRS, Algérie
3. laboratoire de biologie, etablissement hospitalier specialise de Ben-aknoun, ALGEIRS, Algérie
4. Département de génétique ,INSERM U781- Institut IMAGINE, Hôpital Necker-Enfants Malades , Paris, France
5. laboratoire de neurophysiologie, etablissement hospitalier specialise de Ben-aknoun, ALGEIRS, Algérie
6. Laboratoire de génétique moléculaire, Hôpital Necker-Enfants Malades , Paris, France

**Mots clefs :** Rett syndrome ,hétérotopie nodulaire périventriculaire ,délétion Xq28 , MECP2 , FLNA

#### Résumé :

le syndrome de Rett est une encéphalopathie progressive d'origine génétique qui touche exclusivement les filles ,le plus souvent lié à des mutations du gène MECP2 (methyl-Cpg-binding proteine 2). L'hétérotopie nodulaire périventriculaire est un trouble de la migration neuronale,génétiquement hétérogène souvent due à une mutation du gène FLNA (Filamine Alpha) .Elle est létale chez le garçon. Ces deux gènes MECP2 et FLNA sont situés de façon contigue dans la région Xq28.

Nous rapportons le cas d'une fille âgée de 8 ans née à terme de parents non apparentés sans incidents avec des mensurations normales .Depuis l'age de 2 ans elle presente une regression progressive du langage avec perte de l'usage des mains ,des stereotypies manuelles ,des troubles de la communication et des crises d'epilepsies .L'IRM cerebrale met en evidence un aspect en faveur d'une heterotopie nodulaire periventriculaire .Le sequençage directe du gène MECP2 ne montre pas de mutation .L'etude MLPA a permis de mettre en evidence une délétion hétérozygote de la région Xq28 d'une taille de 450 kb à 600 kb emportant la totalité du gène MECP2 ,tout ou partie du gène FLNA et IRAK1 .L'etude des parents indique que ce remaniement est survenu de novo .

La revue de la littérature montre que les microdélétions du gène MECP2 représentent 15 à 25% des filles mutation négative et sont à l'origine de forme typique de Rett. Les cas de grande délétion MECP2 étendue au gène IRAK1 presentent souvent un syndrome de Rett classique avec parfois un trouble de l'ossification mais sans anomalies congénitales majeurs. Les quelques cas de microdélétions Xq28 décrits à ce jour concernent seulement les gènes FLNA-EDMD et MECP2 - IRAK1. C'est le premier cas de microdélétion impliquant les gènes MECP2 ,FLNA et IRAK1 diagnostiqué à la suite de la découverte d'un syndrome de Rett associé à une hétérotopie périventriculaire chez une fille non porteuse de mutation MECP2 .Cette observation permet de souligner l'importance de compléter le séquençage du gène par des études quantitatives .

## CYTOGÉNÉTIQUE ET REMANIEMENTS CHROMOSOMIQUES

### #2413 : Aspects épidémiologiques, cliniques et cytogénétiques du syndrome de Down en consultation de génétique médicale au Bénin en 2015

#### Auteurs :

MAROUFOU JULES ALAO (1), Brenda AYAYEN (2), Gratien SAGBO (3), BLAISE AYIVI (3)

1. Pédiatrie, CHU de la Mère et de l'Enfant Lagune de Cotonou, Cotonou, Bénin
2. Pédiatrie, CNHU Cotonou, Cotonou, France
3. Pédiatrie, CNHU Cotonou, Cotonou, Bénin

**Mots clefs** : syndrome de Down, retard psychomoteur, trisomie 21, canal atrioventriculaire.

#### Résumé :

##### Introduction

Le syndrome de Down représente le syndrome polymalformatif le plus fréquent. Il est secondaire à une trisomie 21. Son incidence est estimée à 1/650 à 1/1000 naissances vivantes dans le monde. Il a été peu étudié au Bénin. Nous faisons ici le point de cette affection génétique à la consultation de génétique médicale au CNHU de Cotonou en 2015.

##### Méthode

Il s'agissait d'une étude prospective, descriptive portant sur les enfants reçus en consultation de génétique médicale dans le service de Pédiatrie au CNHU de Cotonou en 2015. Les données collectées portaient sur les données épidémiologiques, cliniques et cytogénétiques après un examen clinique complet et une réalisation de caryotype standard.

##### Résultats

Sur la période d'étude (janvier à septembre 2015), 21 enfants porteurs du syndrome de Down ont été inclus. L'âge moyen au diagnostic était de 30 mois avec des extrêmes allant de quatre mois à 156 mois (13 ans). La sex-ratio était de 0,75. L'âge moyen des mères à la naissance était de 34 ans. Les principaux éléments dysmorphiques observés étaient, l'hypertélorisme, les fentes palpébrales obliques en haut et en dehors, les replis épicanthiques, le cou court et la brachydactylie. Ils avaient tous un retard psychomoteur. Des malformations cardiaques avaient été retrouvées chez huit enfants sur 21 qui avaient une échographie cardiaque. Les anomalies retrouvées étaient le canal atrio-ventriculaire (n=3), communication interventriculaire (n=3), communication inter-atriale (n=1) et persistance du canal artériel (n=1). La trisomie 21 libre était présente chez tous les 21 enfants.

##### Conclusion

Nos résultats sont conformes à ce qui communément rapporté. Un accent particulier doit être mis sur la sensibilisation en vue d'un dépistage anténatal.

## CYTOGÉNÉTIQUE ET REMANIEMENTS CHROMOSOMIQUES

### #2481 : Un nouveau cas d'acro-ostéolyse induit par une duplication du gène *PTHLH*

#### Auteurs :

Céline PEBREL-RICHARD (1), Fanny LAFFARGUE (2), Stéphan KEMENY (1), Stéphane ECHAUBARD (3), Eléonore EYMARD-PIERRE (4), Laetitia GOUAS (4), Gaëlle SALAUN (5), Geneviève BAUJAT (6), Carole GOUMY (4), Philippe VAGO (7), Christine FRANCANNET (8)

1. Service de Cytogénétique, CHU Estaing Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, France
2. Service de Génétique Médicale, CHU Estaing Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, France
3. Pédiatrie Générale, CHU Estaing Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, France
4. Service de Cytogénétique, CHU Estaing Clermont-Ferrand, Clermont-ferrand, France
5. Service de Cytogénétique, CHU Estaing Clermont-Ferrand, Clermont-ferrand.fr, France
6. Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU Paris - Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
7. Service de Cytogénétique, CHU Estaing Clermont-Ferrand, Clermontferrand, France
8. Service de Génétique Médicale, CHU Estaing Clermont-Ferrand, Clermont-ferrand, France

**Mots clefs :** Duplication 12p11, *PTHLH*, acro-ostéolyse

#### Résumé :

Le gène *PTHLH* (Parathyroid hormone-like hormone) code une hormone qui régule, via son récepteur *PTH1R*, l'ossification endochondrale et les interactions épithélio-mésenchymateuses lors de la formation des glandes mammaires et des dents. Des mutations et délétions des gènes *PTHLH* ou *PTH1R* sont à l'origine de plusieurs dysplasies squelettiques incluant : la brachydactylie de type E, le syndrome d'Eiken, la chondrodysplasie métaphysaire de Jansen et la chondrodysplasie de type Blomstrand. Récemment, l'identification d'une duplication 12p11.22-p11.23 impliquant le gène *PTHLH*, à l'état homogène ou en mosaïque, chez 4 patients présentant des dysplasies osseuses, a conduit Gray et al à suggérer l'existence d'un nouveau syndrome associant une acro-ostéolyse, des irrégularités corticales au niveau des os longs et une enchondromatose métaphyso-diaphysaire, en réponse à cette duplication [Gray et al, J.Hum.Genet., 2014].

Nous rapportons le cas d'une jeune fille de 15 ans présentant une acro-ostéolyse avec lésions ostéolytiques des phalanges distales des doigts, des orteils et de plusieurs métatarses, une atteinte des os longs avec des images lacunaires de type cortical defect ainsi qu'une lyse isthmique bilatérale de L5. On note un hippocratisme digital avec des doigts et des orteils qui apparaissent en baguettes de tambour. Le morphotype est longiligne avec un visage allongé, un hypertélorisme et un front haut. Les hallux sont larges. L'examen neurologique est sans particularité. L'analyse chromosomique sur puce à ADN (60K Agilent®) a permis d'identifier, chez cette jeune fille, une duplication interstitielle de 900 kb en 12p11.22-p11.23 (27,232,251-28,123,884 [Hg19]). La région dupliquée compte 10 gènes RefSeq et chevauche, partiellement, un polymorphisme rapporté dans DGV (Database of Genomic Variants), ce qui peut engendrer quelques difficultés d'interprétation. Au-delà de ce polymorphisme subsistent 5 gènes également retenus par Gray et al : *REP15*, *MRPS35*, *MANSC4*, *KLHDC* et le gène *PTHLH*. L'enquête familiale a permis de confirmer le caractère hérité de cette duplication. Une polydactylie post-axiale du pied est rapportée dans les antécédents personnels du parent porteur ainsi qu'une ostéophytose débutante et des déformations digitales dans ses antécédents familiaux, suggérant l'expressivité variable de cette variation génomique.

Cette observation vient renforcer l'hypothèse d'un nouveau syndrome d'acro-ostéolyse probablement induit par une perturbation de la voie de signalisation *PTHLH-PTH1R*, au cours du développement squelettique, en réponse à une duplication 12p11.22-p11.23, incluant le gène *PTHLH*.

**#2512 : Phénotype sexuel discordant chez des jumeaux monozygotes en mosaïque XXY/XX.**

**Auteurs :**

Gaëlle TACHON (1), Jacques PUECHBERTY (2), Geneviève LEFORT (3), Anouck SCHNEIDER (3), Sylvie TAVIAUX (3), Franck PELLESTOR (3), David GENEVIEVE (2), Vincent GATINOIS (3)

1. Laboratoire de Cancérologie Biologique, CHRU de Poitiers , Poitiers , France
2. Département de Génétique Médicale, Hôpital Arnaud de Villeneuve, CHRU Montpellier, Montpellier, France
3. Laboratoire de Génétique Chromosomique, Hôpital Arnaud de Villeneuve, CHRU Montpellier, Montpellier, France

**Mots clefs :** Mosaïque XXY/XX, Jumeaux monozygotes, Sexe discordant, Klinefelter

**Résumé :**

Il est généralement admis que les jumeaux monozygotes présentent le même génotype et phénotype. Des jumeaux monozygotes avec un phénotype sexuel discordant sont très rares. De rares cas ont été décrits dans la littérature, souvent dans le contexte d'un syndrome de Turner en mosaïque 46,XY/45,X ou 46,XX/45,X.

Nous rapportons ici le premier cas jamais décrit de discordance phénotypique sexuelle entre des jumeaux monozygotes avec une mosaïque 47,XXY/46,XX. Les jumeaux souffraient de retards cognitifs, de troubles du comportement et du langage. Le jumeau mâle seul présentait une maladie bulleuse auto-immune.

L'analyse de la zygotie par biologie moléculaire avec plusieurs marqueurs génétiques confirme la monozygotie des jumeaux. L'examen clinique et l'échographie des organes de reproduction n'ont décelé aucune anomalie. Des tests endocriniens ont révélé un faible niveau de testostérone pour le Jumeau 1 (phénotype masculin) et un niveau de gonadotrophines faible pour le Jumeau 2 (phénotype féminin). Ces données, combinés avec les résultats de l'échographie, ont fourni des informations utiles pour évaluer le potentiel reproductif des jumeaux.

L'étude des caryotypes sanguins a révélé la présence d'une mosaïque associant une lignée cellulaire 46,XX normale et une lignée cellulaire aneuploïde 47,XXY chez les deux patients. Des proportions différentes des lignées cellulaires 46,XX et 47,XXY ont été retrouvées dans plusieurs prélèvements d'origine tissulaire différente tels que le sang, les frottis buccaux et l'urine. Ces résultats pourraient expliquer la discordance sexuelle observée ainsi que les signes mineurs du syndrome de Klinefelter observés chez les 2 jumeaux.

Le mécanisme biologique sous-jacent le plus plausible serait la perte post-zygotique, dans un premier temps, du chromosome Y chez un 47,XXY zygote. Il en résulterait un embryon composé à la fois de lignées cellulaires 46,XX et 47,XXY qui pourrait par la suite se diviser en deux embryons monozygotes par un processus classique de formation de jumeaux. Puis, les deux lignées cellulaires évolueraient et se répartiraient différemment entre les tissus et entraîneraient ainsi des discordances phénotypiques entre les deux jumeaux.

Ce cas conforte les théories récentes sur l'importance et l'impact que peut avoir la forte instabilité chromosomique lors des premiers stades de développement embryonnaire. Le type de mosaïque et ses conséquences cliniques dépendent de divers facteurs, notamment où et quand l'accident chromosomique survient au cours du développement embryonnaire.

[1] Tachon G, Lefort G, Puechberty J, *et al.* Discordant sex in monozygotic XXY/XX twins: a case report. *Hum Reprod Oxf Engl* 2014;**29**:2814–20. doi:10.1093/humrep/deu275

## CYTOGÉNÉTIQUE ET REMANIEMENTS CHROMOSOMIQUES

**#2543 : Identification d'un der(4)t(4;11)(p16.3;p15)pat chez une enfant en période néonatale : présentation clinique et caractérisation chromosomique.**

### Auteurs :

Houda Karmous-Benailly (1), Julie Oertel (2), Manal Dayem-Quere (3), Véronique Paquis (3), Fabienne Giuliano (1)

1. Génétique Médicale, Hôpital Archet II, CHU Nice, Nice, France
2. Pédiatrie, Archet II, CHU Nice, Nice, France
3. Génétique Médicale, Hôpital Archet II, CHU Nice, nice, France

**Mots clefs :** Wolf-Hirschhorn, Beckwith-Wiedeman

### Résumé :

Nous rapportons le cas d'une patiente hospitalisée en Néonatalogie pour hypotonie et difficultés d'alimentation. La grossesse avait été marquée par la découverte d'une dilatation pyélique bilatérale et une suspicion de diminution des mouvements actifs fœtaux 15 jours avant l'accouchement. L'enfant est née à terme (40 SA +1j) ; le poids de naissance était de 3210 g, la taille 50 cm et le PC 32.5 cm. L'examen clinique montrait une hypotonie axiale majeure et l'apparition d'un souffle systolique. L'échographie cardiaque a révélé une CIV large. L'échographie rénale a mis en évidence une dilatation rénale bilatérale associée à des microkystes corticaux bilatéraux. Lors de la consultation de génétique, il a été noté une dysmorphie faciale, des mamelons écartés, un anus antéposé, une hernie des grands droites, des plis palmaires anormaux et une clinodactylie du 5 bilatérale. Le tableau clinique de cette enfant faisant suspecter une microdélétion 4p16.3, une analyse par FISH a été réalisée et a pu confirmer rapidement ce diagnostic clinique. Le caryotype de la patiente a montré la présence de matériel chromosomique excédentaire sur un chromosome 4. L'étude des parents par FISH a montré que le père était porteur d'une translocation entre un chromosome 4 et un autre chromosome. Une analyse chromosomique sur puces à ADN réalisée chez la patiente a permis de caractériser précisément ce remaniement en montrant la présence d'une délétion en 4p16.3, située dans la région critique du syndrome de Wolf-Hirschhorn, associée à une duplication de la région 11p15.4-p15.5, située dans la région critique du syndrome de Beckwith-Wiedemann qui peut s'exprimer suite à une duplication de cette région lorsqu'elle est d'origine paternelle. La peinture des chromosomes 4 et 11 réalisée chez le père a confirmé qu'il était porteur d'une translocation réciproque entre un chromosome 4 et un chromosome 11. Ainsi, la patiente a hérité du dérivé 4 de la translocation t(4;11)(p16.3;p15) paternelle. Le syndrome de Wolf-Hirschhorn est un trouble du développement comportant une dysmorphie faciale caractéristique, un retard de croissance pré et post-natal, un déficit intellectuel, une hypotonie, un retard psychomoteur, des crises d'épilepsies. Le syndrome de Beckwith-Wiedemann, est quant à lui, caractérisé par une croissance excessive, des malformations congénitales et une prédisposition tumorale. Nous discuterons de la corrélation génotype-phénotype chez la patiente et présenterons les rares cas similaires décrits dans la littérature.

## CYTOGÉNÉTIQUE ET REMANIEMENTS CHROMOSOMIQUES

**#2574 : Nouvelles technologies en cytogénétique et caractérisation des remaniements chromosomiques complexes.**

### Auteurs :

Christine COUBES (1), Anouck SCHNEIDER (2), Wigard KLOOSTERMAN (3), Geneviève LEFORT (2), Magali TOURNAIRE (2), Manon GIRARD (2), Mélanie DI NICOLA (2), Emmanuelle HAQUET (1), Sylvie TAVIAUX (2), David GENEVIÈVE (1), Franck PELLESTOR (2), Jacques PUECHBERTY (1)

1. Département de Génétique Médicale, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
2. Laboratoire de Génétique Chromosomique, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
3. Biomedical Genetics, University Medical Center, Utrecht, Pays-Bas

**Mots clefs :** Remaniements chromosomiques complexes, puces à ADN, séquençage à haut débit, chromothripsis.

### Résumé :

Les remaniements chromosomiques complexes (RCC) sont des anomalies de structure impliquant au moins trois points de cassure avec échanges de segments chromosomiques. La grande majorité des RCC sont des associations de translocations. Nous rapportons le cas d'une petite fille hospitalisée en soins intensifs pour retard de croissance intra-utérin, détresse respiratoire néonatale, difficultés d'alimentation, hypertension globale et syndrome malformatif (persistance du canal artériel, anomalies corticales de la giration et de la substance blanche, anomalies oculaires, microkystes corticaux rénaux bilatéraux, anomalies des extrémités). L'enfant est décédée à trois mois de vie dans un contexte d'épilepsie, de détresse respiratoire et de défaillance cardiaque. Le caryotype constitutionnel initial a mis en évidence un RCC déséquilibré de novo avec un isochromosome 5p, un chromosome 1 dérivé d'une translocation t(1p36;5q13) et une délétion terminale 1p36.3. Une analyse chromosomique sur puce à ADN (ACPA) avec une puce haute résolution CytoScan HD (Affymetrix) a montré quatre déséquilibres supplémentaires de novo avec une délétion en 2p11.2 de 547 kb, une duplication en 5q11.1q11.2 de 2509 kb et deux délétions en 5q31.1 de 250 kb et 1190 kb. La délétion 2p11.2 contient le gène *REEP1* responsable d'une neuropathie motrice héréditaire distale autosomique dominante type VB (HMNVB, OMIM : #614751). Une analyse par séquençage à haut débit (Whole Genome Sequencing ou WGS) a permis de préciser les points de cassure des remaniements chromosomiques et en a découvert de nouveaux, compliquant d'autant plus la cytogénétique du RCC (Profondeur de lecture 30X, analyse « paired-end » et « mate-pair »). L'identification de ces nombreux points de cassure sur les chromosomes 1 et 5 suggère un mécanisme de chromothripsis ou de chromoanasythesis, deux phénomènes inattendus récemment mis en évidence dans les anomalies chromosomiques constitutionnelles. L'utilisation des technologies les plus récentes en cytogénétique (ACPA, WGS) a apporté une nouvelle dynamique à cette discipline à la fois par l'augmentation du nombre de diagnostics étiologiques faits et par l'appréhension des mécanismes à l'origine des aberrations chromosomiques. En fin de compte, un grand nombre de RCC sont plus complexes qu'initialement suggéré par l'analyse en cytogénétique classique.

## CYTOGÉNÉTIQUE ET REMANIEMENTS CHROMOSOMIQUES

**#2613 : Meta-analysis of 1343 small indel mutations causing human inherited disease reveals a new mutational signature characteristic of the action of translesion synthesis DNA polymerases in the human genome**

### **Auteurs :**

Jian-Min Chen (1), Claude Férec (1), David Cooper (2)

1. INSERM U1078; EFS – Bretagne; UBO, Brest, France, , Brest, France

2. Institute of Medical Genetics, School of Medicine, Cardiff University, Cardiff, United Kingdom, , Cardiff, Royaume Uni

**Mots clefs :** Human inherited disease, translesion synthesis DNA polymerase, mutational signature

### **Résumé :**

Spontaneous germline mutations are the driving force behind both human genome evolution and inherited disease. Therefore, understanding their rate, mutational signatures and generative mechanisms has always been a central theme in human genetics. Among the different approaches employed to study these issues, the meta-analysis of mutations causing human inherited disease has three key advantages. First, as a unique source of naturally occurring mutations, pathogenic mutations harbor important informational clues as to the nature of the underlying mutational mechanisms that impact upon the human genome. Second, owing to negative selection, most of the rare disease-causing mutations should have occurred comparatively recently. Indeed, such lesions can even be regarded as a surrogate for de novo germline mutations if considered in an evolutionary context. Third, the authenticity of mutations (particularly those complex ones) can be ensured by manual evaluation of the original reports and therefore only those confirmed by Sanger sequencing are included for subsequent analysis. The Human Gene Mutation Database (HGMD; [www.hgmd.org](http://www.hgmd.org)) represents a comprehensive collation of mutations underlying human inherited disease. Based upon mutational signatures of multiple-nucleotide substitution (MNS) mutations (two or more nucleotide changes occurring without any net gain or loss of bases with respect to the reference allele in closely spaced sites), we have recently postulated two properties of translesion synthesis (TLS) DNA polymerases in DNA repair: namely, the generation of neo-microhomologies for potentiating strand-misalignment, and additional micro-lesions within the templated inserts when recruited to stalled replication forks. Herein we meta-analyzed all 1343 small indel mutations (concurrently generated deletion and insertion at a same site resulting in a net gain or loss of bases; either loss or gain of bases is < 20 bp) registered in the Professional version of HGMD (as of June 2013). This analysis not only provided supporting evidence for our previous postulate but also revealed a new mutational signature characteristic of the action of TLS DNA polymerases in the human genome.

## CYTOGÉNÉTIQUE ET REMANIEMENTS CHROMOSOMIQUES

#2636 : Exploration cytogénétique des fausses couches spontanées récurrentes chez des couples tunisiens

### Auteurs :

Wem AYED (1), Wajih HAMMAMI (2), Meriem BEN KHALIFA (3), Zouhour BELGHITH (3), Islem MESSAOUDI (3), Hylmi GUERMANI (3), Nabila ABIDLI (3), Imen CHEMKHI (3), Ahlem AMOURI (3)

1. Laboratoire d'Histologie et de Cytogénétique , Institut Pasteur de Tunis , Tunis, Tunisie
2. Laboratoire d'Histologie et de Cytogénétique , Institut Pasteur de Tunis, Tunis, France
3. Laboratoire d'Histologie et de Cytogénétique , Institut Pasteur de Tunis, Tunis, Tunisie

**Mots clefs :** Infertilité, Fausses couches, caryotype, anomalies chromosomiques

### Résumé :

Les pertes fœtales à répétitions (PFR) sont la forme clinique la plus fréquente d'échec de la reproduction. Le syndrome de fausses couches spontanées à répétition (FCSR) se définit par au moins deux avortements spontanés consécutifs avant 24 semaines de gestation, et il est causé par de multiples étiologies, telles que les anomalies utérines, les perturbations hormonales ou métaboliques, les causes infectieuses, les thrombophilies héréditaires ou acquises et les anomalies chromosomiques.

Le but de notre travail est de rechercher les éventuelles anomalies chromosomiques chez des couples présentant des FCSR.

Notre travail porte sur une cohorte de 163 couples colligés, sur une période de 5 ans, adressés à notre laboratoire pour PFR. Nos patients présentent au moins deux FCSR. Une enquête génétique ainsi qu'une étude cytogénétique conventionnelle leur ont été réalisées. Le caryotype est établi à partir d'un prélèvement sanguin périphérique recueilli stérilement, dans un tube contenant de l'héparinate de lithium. La technique de marquage chromosomique adoptée dans le laboratoire est le banding RHG.

La prévalence des anomalies chromosomiques chez les couples à FCSR est de 8.5% soit 14/163, plus fréquente chez les femmes que les hommes avec une prédominance des anomalies de structure.

Nos résultats soulignent l'importance de l'exploration cytogénétique constitutionnelle des couples ayant des FCSR, et ce dès le second accident. A la lumière de ces résultats, un conseil génétique adopté est proposé ainsi qu'un diagnostic prénatal en cas d'une grossesse évolutive. Un diagnostic préimplantatoire couplé à une prise en charge par la PMA pourrait être indiqué.

## CYTOGÉNÉTIQUE ET REMANIEMENTS CHROMOSOMIQUES

**#2668 : Anomalies clonales Philadelphie négatives dans la LMC : impact de la monosomie 7/délétion 7q et évaluation d'une possible seconde pathologie sous-jacente**

### Auteurs :

Catherine Roche-Lestienne (1), Stéphanie Dulucq (2), Anne Laure Vervaeke (2), Audrey Bidet (2), Alice Marceau (3), Lauren Véronèse (4), Eric Hermet (5), Delphine Réa (6), Marie-Pierre Noël-Walter (7), Olivier Nibourel (3), Claude Preudhomme (3), François-Xavier Mahon (2)

1. CHU Lille, Institut de Génétique Médicale, U1172 Inserm et Université de Lille 2, F-59000 Lille, France, , Lille, France
2. CHU Bordeaux, Laboratoire d'Hématologie et Inserm U916, 33076 Bordeaux, France, , Bordeaux, France
3. CHU Lille, Institut d'Hématologie Transfusion, et U1172 Inserm, F-59000 Lille, France, , Lille, France
4. Service de Cytogénétique Médicale, CHU Estaing ; EA ERTICa 4677, Université d'Auvergne, 63000 Clermont-Ferrand, France , , Clermont-Ferrand, France
5. Service Hématologie clinique adulte, CHU Estaing, Clermont-Ferrand, France, , Clermont-Ferrand, France
6. Service Clinique des Maladies du Sang, Hôpital St Louis, Paris, France, , Paris, France
7. CHU Lille, Service Clinique des Maladies du Sang, F-59000 Lille, France, , Lille, France

**Mots clefs :** Leucémie Myéloïde Chronique, anomalies cytogénétique Philadelphie-négatives, monosomie 7/délétion 7q

### Résumé :

Les anomalies cytogénétiques clonales additionnelles dans les cellules Ph négatives (ACA/Ph-) concerneraient 2 à 15% des patients atteints de leucémie myéloïde chronique (LMC) traitées par inhibiteurs de tyrosine kinase (ITKs). Leur signification biologique est inconnue. Le pronostic de ces patients est discuté et pourrait différer selon le type d'ACA, la monosomie 7 ou la délétion 7q (-7/del(7q)) étant distinguées dans les nouvelles recommandations ELN 2013 comme un critère d'alerte. Cette exception repose sur des observations qui indiquent des signes de syndrome myélodysplasique (SMD) et un risque accru de développement de leucémie aigüe myéloïde (LAM) chez ces patients, qui n'existerait pas avec les autres ACA/Ph- en l'absence de dysplasie. Ce qui pourrait suggérer la présence de 2 pathologies distinctes chez ces patients : LMC et SMD de haut risque.

L'objectif de cette étude nationale rétrospective multicentrique est d'évaluer l'impact des ACA/Ph- de type -7/del(7q) sur la réponse au traitement et la survie sans évènement (EFS) ou sans progression (PFS) par rapport aux autres ACA Ph-, et d'argumenter la présence éventuelle d'un SMD sous-jacent. Les arguments recherchés sont cytologiques (relecture centralisée des moelles) et génomiques (séquençage haut débit (NGS) NextSeq500®, Illumina) d'un panel de 36 gènes fréquemment altérés dans les SMD/LAM. L'analyse NGS a été réalisée de manière appariée selon l'âge et le type d'ACA avec des patients non LMC mais pris en charge pour un SMD.

Les résultats préliminaires de cette étude concernent actuellement 32 LMC (18H/13F) dont 9 avec -7/del(7). La répartition du score de Sokal bas, intermédiaire, élevé ou non renseigné est respectivement de 9, 7, 10 et 6, et pas significativement différente entre les 2 groupes. 3 patients sont en phase accélérée mais sans ACA -7/del(7q). Le suivi médian depuis le diagnostic de LMC est de 6 ans [1-19 ans]. L'âge médian est de 44 ans pour les -7/del(7q) et de 57 ans pour les autres ACA Ph-[21-81 ans]. Dans le groupe -7/del(7q), 33% des patients ont bénéficié d'une seconde ligne de traitement et 11% d'une troisième ligne. Cette proportion est de 30% et 4% pour les patients de l'autre groupe. Les -7/del(7q) sont observées plus fréquemment chez des patients ayant une moins bonne réponse aux ITKs de première et seconde ligne selon les critères de l'ELN 2013, mais la différence sur l'EFS ou la PFS entre les 2 groupes n'est pas significative. Cinq patients présentent des signes SMD au myélogramme, dont un seul avec monosomie 7. L'analyse par NGS a été réalisée pour 10 LMC, sans signe de myélodysplasie, et 10 SMD. Mises à part des mutations du gène *ASXL1* observées dans les 2 groupes, seules 2 mutations de *ZRSR2* ont été retrouvées dans les LMC contre, en revanche, 14 gènes altérés dans les SMD. L'étude élargie à d'autres patients en cours de recrutement et l'analyse NGS étendue à l'ensemble des nouvelles observations, dont des cas de LMC avec signes de SMD, sera présentée.

## CYTOGÉNÉTIQUE ET REMANIEMENTS CHROMOSOMIQUES

**#2671 : Brain developmental dysfunction (Neurological Phenotype) and Sex Chromosomal Aneuploidies:  
Evidence for a, at least, Two-Hit Model?**

### Auteurs :

Jessica LE GALL (1), Bertrand ISIDOR (1), Claire BENETEAU (1), Sandra MERCIER (1), Olivier PICHON (2), Cédric LE CAIGNEC (2), Brigitte GILBERT-DUSSARDIER (3), Frédéric BILAN (4), Mélanie FRADIN (5), Sylvie JAILLARD (6), Séverine AUDEBERT-BELLANGER (7), Claude FEREC (8), Sébastien JACQUEMONT (9), Dominique MARTIN (10), Odile BOUTE (11), Joris ANDRIEUX (12), Elise SCHAEFER (13), Valérie CORMIER (14), Sébastien MOUTTON (15), Caroline ROORYCK THAMBO (16), Damien SANLAVILLE (17)

1. Génétique médicale, CHU Hôtel-Dieu, Nantes, Nantes, France
2. laboratoire de cytogénétique, CHU Hôtel-Dieu, Nantes, Nantes, France
3. Génétique médicale, CHU Poitiers, Poitiers, France
4. Laboratoire de génétique, CHU Poitiers, Poitiers, France
5. Génétique médicale, CHU Rennes, Rennes, France
6. laboratoire de cytogénétique, CHU Rennes, Rennes, France
7. Génétique médicale, CHU Brest, Brest, France
8. Laboratoire de génétique moléculaire et d'histocompatibilité, CHU Brest, Brest, France
9. , CHU Sainte Justine, Montreal, Canada, Montreal, France
10. Génétique médicale, CH Le Mans, Le Mans, France
11. Génétique médicale, CHRU Lille, Lille, France
12. Laboratoire de génétique médicale, CHRU Lille, Lille, France
13. Génétique médicale, CHU Strasbourg, Strasbourg, France
14. Génétique médicale, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, Paris, France
15. Génétique médicale, CHU Bordeaux, Bordeaux, France
16. Laboratoire de génétique moléculaire, CHU Bordeaux, Bordeaux, France
17. Laboratoire de cytogénétique constitutionnelle, CHU de Lyon, Lyon, France

**Mots clefs :** gonosomal aneuploidy, CNV, Klinefelter's syndrome, Triple X, 47,XYY, cognitive, neurological, brain

### Résumé :

Sex chromosome aneuploidies (SCA) describe a group of conditions in which individuals have an abnormal number of sex chromosomes. SCA, such as Klinefelter's syndrome, XYY syndrome, Triple X syndrome, are associated with a very variable neurological outcome. Here, we present the hypothesis that a second genetic event such as another cytogenetics abnormality may explain a part of this variable expressivity.

To test this hypothesis, we have recruited patients with intellectual deficiency or developmental delay carrying SCA associated with another genomic disorder.

Fourteen patients with SCA and cognitive/neurological problems carrying another genetic anomaly have been identified. In our cohort (5 patients 47,XXY, 4 patients 47,XXX, 5 patients 47,XYY), 6 patients were carrying a deleterious CNV, 7 a probably deleterious CNV, one with Down syndrome and one with Williams-Beuren syndrome.

Our analysis suggests that CNV constitute an independent risk factor for intellectual disability (ID) and developmental delay (DD) for patients with SCA. We propose a 'two-hit' model for SCA wherein the cognitive, psychiatric or neurological symptoms may be, at least partially, relative to this second event.

## CYTOGÉNÉTIQUE ET REMANIEMENTS CHROMOSOMIQUES

**#2679 : Apport du Séquençage haut débit dans la caractérisation d'un remaniement chromosomique complexe impliquant apparemment quatre chromosomes.**

### Auteurs :

Flavie Diguët (1), Fanny Morice-Picard (2), Linda Pons (1), Pierre-Antoine Rollat-Farnier (3), Damien Sanlaville (1), Caroline Schluth-Bolard (1)

1. Service de Génétique, Laboratoire de Cytogénétique Constitutionnelle, CBPE, Hospices Civils de Lyon, Centre de Recherche en Neurosciences de Lyon, INSERM U1028 ; CNRS UMR5292 ; UCBL1 ; TIGER Team , Bron, France
2. Service de Génétique Médicale, Hôpital Pellegrin, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France
3. Service de Génétique, Laboratoire de Cytogénétique Constitutionnelle, Centre de Biologie et de Pathologie Est, Hospices Civils de Lyon, Bron, France

**Mots clefs :** remaniement chromosomique complexe, séquençage haut-débit, chromosome

### Résumé :

Les remaniements chromosomiques complexes (RCC) sont des anomalies de structure impliquant au moins trois points de cassure sur deux chromosomes ou plus. Ces remaniements sont très rares et sont associés à un phénotype anormal dans environ 25% des cas. Le caryotype est la technique de référence pour détecter les RCC mais cette approche est limitée par sa faible résolution (5-10 Mb). L'analyse chromosomique sur puces à ADN (ACPA) est beaucoup plus résolutive (de l'ordre de 100 kb) mais ne permet de détecter que des anomalies génomiques déséquilibrées. Ces techniques restent insuffisantes pour caractériser de façon complète et précise les RCC. Nous nous sommes donc intéressés à l'apport du séquençage haut débit (Next Generation Sequencing ou NGS) pour caractériser les RCC à l'échelle de la base nucléotidique.

Nous avons étudié un RCC apparemment équilibré sur le caryotype  $46,XY,t(2;15;8;10)(q32.3;q26;q21.3;q23)$  découvert chez un patient porteur d'une déficience intellectuelle syndromique. L'ACPA ne montrait pas de déséquilibre génomique. Un séquençage « paired-end » génome entier a été réalisé sur le NextSeq 500 (Illumina). Cette méthode implique le séquençage des 2 extrémités d'un fragment d'ADN d'environ 350 pb, ces deux lectures étant ainsi « voisines » dans le génome du patient. L'alignement a été réalisé en utilisant BWA contre la référence hg19. Les paires de lectures considérées anormales (voisinage différent entre le patient et la référence) ont été répertoriées par BreakDancer puis visualisées avec IGV. Le NGS a permis d'identifier 5 points de cassure, qui ont été vérifiés par PCR et séquençage Sanger :

- 2q33.1 (chr2 :199,780,459-199,780,460),
- 15q26.3 (chr15 :99,757,847-99,763,974) associé à une perte de 6 127 bases,
- 15q26.3 (chr15 :99,781,580-99,783,832) associé à une perte de 2 252 bases,
- 8q22.1 (chr8 :98,883,795-98,883,797) associé à une duplication de 3 bases (ACT)
- 10q23.31 (chr10 :90,093,731-90,093,734) associé à une duplication de 4 bases (AATA).

De plus, il a été mis en évidence 4 insertions méconnues jusqu'alors :

- une insertion cryptique de 20kb du chromosome 15 sur le dérivé (der) 2,
- une insertion de 8 bases sur le der(15),
- une insertion de 1 base sur le der(8)
- une insertion de 29 bases dérivées du chromosome 20 sur le der(10).

Trois gènes ont été interrompus par ce RCC.

Le NGS révèle donc un niveau de complexité bien supérieur à celui du caryotype, puisque ce RCC se caractérise par 4 translocations, une insertion cryptique de 20kb et 2 délétions cryptiques de 6 et 2 kb, associées à de multiples remaniements de quelques bases. Cette analyse confirme que le NGS est un outil rapide et efficace pour caractériser des points de cassure complexes au niveau moléculaire. Il permet de recueillir des données nécessaires à la compréhension de la mécanique des RCC. Il présente aussi un intérêt diagnostique majeur en révélant avec une localisation précise l'interruption de gènes.

**CYTOGÉNÉTIQUE ET REMANIEMENTS  
CHROMOSOMIQUES**

**#2685 : De novo inverted duplication 9p12p24 with IGF1 deficiency**

**Auteurs :**

Saadia Amasdl (1)

1. Département de Génétique Médicale, Institut National d'Hygiène, rabat, Maroc

**Mots clefs :** 9p duplication, IGF1 deficiency, multicolor banding, IGFBPL1

**Résumé :**

Duplication 9p is a structural chromosome abnormality, described in more than 150 patients. In most cases, duplicated segment was inherited from a reciprocal translocation carrier parent, with only a few patients with de novo duplications. Clinically, this condition is characterized by mental retardation, short stature, dysmorphic features especially (brachycephaly,downslanting palpebral fissures, hypertelorism, short wide neck, prominent nose, low set ears), development delay, anomalies of hands and toes, heart defects and ocular manifestations. We describe a further case of de novo partial 9p duplication dup(9)(p12p24) admitted for failure to thrive, psychomotor delay, dysmorphic features, feet equinus, and umbilical hernia. Paraclinical investigations showed IGF1 deficiency. Conventional cytogenetics displayed a derivative 9 chromosome with an abnormally elongated short arm. FISH based on multicolor binding probes found a de novo inverted duplication 9p12p24. We report a rare form of duplication 9p with IGF1 deficiency and we highlight the role of IGFBPL1 gene overexpression in IGF1 deficiency.

## CYTOGÉNÉTIQUE ET REMANIEMENTS CHROMOSOMIQUES

#2689 : Réarrangement chromosomique inhabituel d'ATM dans un cas de lymphome T de bas grade

### Auteurs :

Saloua TOUJANI (1) (1), Catherine HENRY (1) (1), Dominique JACOMY (2) (2), Sylvie JAILLARD (1) (1), Vincent JAUFFRET (1) (1), Florian CABILLIC (1) (1), Aurélie DECAUX (3) (3), Frédéric DUGAY (1) (1), Josette LUCAS (1) (1), Marc-Antoine BELAUD-ROTUREAU (1) (1)

1. (1) Service de cytogénétique et de Biologie cellulaire, Université et CHU de Rennes, Rennes, France
2. (2) Service de médecine interne, hématologie et maladies infectieuses et tropicales, CH de Laval, Laval, France
3. (3) Laboratoire d'hématologie, Université et CHU de Rennes, Rennes, France

**Mots clefs :** Lymphome/leucémie T, ATM, amplification chromosomique

### Résumé :

Les mutations germinales d'*ATM* (11q22.3) sont associées à l'ataxie-télangiectasie qui se transmet selon le mode autosomique récessif. Les mutations les plus classiques sont de type perte de fonction et traduisent le rôle suppresseur de tumeurs de ce gène (Boohaker and Xu, 2014). L'ataxie-télangiectasie touche plusieurs organes et 10 à 15% des patients développent des hémopathies lymphoïdes malignes (Gumy-Pause et al, 2004). Les altérations d'*ATM* sont également récurrentes dans les lymphomes T sporadiques. Il peut s'agir de mutations inactivatrices, de perte d'hétérozygotie ou bien de délétions chromosomiques (Gumy-Pause et al, 2004). Dans ce travail, nous rapportons une amplification chromosomique d'*ATM* dans un cas de lymphome T de bas grade.

Il s'agissait d'un patient âgé de 53 ans sans antécédent pathologique notable et ayant initialement consulté pour une uvéite. L'examen clinique a retrouvé des adénopathies centimétriques cervicales, axillaires et inguinales sans autre syndrome tumoral associé. Sur le plan biologique, une hyperlymphocytose isolée à 27 G/l a justifié la réalisation d'un caryotype et d'un immunophénotypage lymphocytaire. Ce dernier a mis en évidence une population anormale de lymphocytes T CD3+, CD4+, CD5+, CD8-. L'étude histologique d'une biopsie ganglionnaire a montré une prolifération interfolliculaire de petites cellules lymphoïdes CD3+, CD5+. Un envahissement médullaire a également été retrouvé et le caractère monoclonal de cette prolifération affirmé par biologie moléculaire. Le caryotype sanguin a mis en évidence un clone hypodiploïde à 45 chromosomes avec une formule chromosomique complexe. Des analyses par hybridation *in situ* en fluorescence (FISH), réalisées dans un contexte initial de suspicion d'une leucémie lymphoïde chronique, ont montré une amplification du gène *ATM*. Celle-ci se présentait sous la forme d'une HSR (Homogeneously Staining Region) localisée sur le bras court du chromosome 11.

Les remaniements d'*ATM* à type de délétion sont fréquents dans les hémopathies malignes. Dans la leucémie à prolymphocyte T, la délétion d'*ATM* est observée dans 68% des cas (Soulier et al, 2001). A l'inverse, un gain de la région 11q23.2q23.3 impliquant entre autre *ATM* a été rapporté dans des lymphomes B (Salaverria et al, 2014).

A notre connaissance, nous rapportons la première observation d'une amplification d'*ATM* dans un lymphome T. Des analyses complémentaires sont en cours pour préciser la nature et la taille de cette amplification.

## CYTOGÉNÉTIQUE ET REMANIEMENTS CHROMOSOMIQUES

#2712 : Les délétions dans l'intron 5 de l' $\alpha$ -NRXN1 détectées par ACPA sont-elles vraiment bénignes ?

### Auteurs :

Audrey Labalme (1), Marianne Till (1), James Lespinasse (2), Sophie Dupuis Girod (1), Nicolas Chatron (1), Patrick Edery (1), Caroline Schluth Bolard (1), Damien Sanlaville (3)

1. Génétique, Groupement Hospitalier Est, Lyon, France
2. UF de Génétique, Centre Hospitalier Métropole Savoie, Chambéry, France
3. Centre de Recherche en Neurosciences de Lyon, INSERM U1028; CNRS UMR5292; UCBL1; TIGER Team, Université Claude Bernard, Lyon, France

**Mots clefs :** Déficience Intellectuelle, ACPA, NRXN1

### Résumé :

L'Analyse Chromosomique sur Puce à ADN (ACPA) a montré son efficacité à identifier des variations du nombre de copie pathogènes chez des patients présentant une déficience intellectuelle (DI) avec ou sans syndrome malformatif. Nous sommes tous porteurs de CNVs: une des difficultés est d'identifier le statut bénin ou pathogène des CNVs chez les patients. Habituellement, les CNVs introniques sont considérés comme probablement bénins, surtout s'ils sont de petite taille.

Plusieurs articles ont impliqué le gène *NRXN1* comme facteur de prédisposition aux troubles neuro-développementaux (Bena *et al.*, 2014). Néanmoins, dans les bases de données et la littérature seules les délétions exoniques sont considérées rapportées comme pouvant favoriser une DI ou des troubles Envahissants du Développement (TED).

En reprenant toutes nos analyses depuis 2010, nous avons observé une récurrence de microdélétions localisées au niveau de l'intron 5 de l'isoforme alpha du gène *NRXN1* ( $\alpha$ -*NRXN1*), chez des patients présentant une DI isolée ou des TED (7 cas sur 558 soit 1,4 % de notre cohorte) plus importante que chez des patients atteints de Déficience Intellectuelle dans un Cadre Syndromique (DICS) (3 cas sur 1248 soit 0.24 % de notre cohorte).

Parmi les 7 patients avec DI isolée ou TED, la délétion intronique ségrège parfaitement avec le phénotype dans 2 familles, confortant notre sentiment d'un rôle pathogène des délétions de l'intron 5 de l' $\alpha$ -*NRXN1*.

Chen *et al.* 2013 ont suggéré que ces délétions introniques pouvaient avoir un effet sur l'épissage du gène *NRXN1* qui possède plus d'une centaine de transcrits alternatifs. Les bases de données de régulation (ENCODE Projet) montrent la présence d'insulateurs au niveau de cet intron.

Ainsi, nous proposons que les délétions de l'intron 5 du gène  $\alpha$ -*NRXN1* soient responsables d'une anomalie de la régulation de la transcription du gène. Pour confirmer notre hypothèse, nous devons étudier l'expression de l' $\alpha$ -*NRXN1*. Cependant cette étude semble difficile mais toutefois possible dans des lignées lymphoblastoïdes. En effet, Kim *et al.* 2008 ont ainsi démontré une diminution de protéine  $\alpha$ -*NRXN1* par Western Blot chez une patiente porteuse d'une translocation dont un point de cassure se situait dans l'intron 5 de l' $\alpha$ -*NRXN1*.

En conclusion, en cas d'identification d'un CNV à type de perte au niveau de l'intron 5 du gène l' $\alpha$ -*NRXN1* chez un patient présentant une DI isolée ou un TED, il faut rester prudent concernant l'interprétation de ce CNV qui pourrait bien participer au phénotype des patients. D'autres cas et des études fonctionnelles sont nécessaires pour conclure quant au caractère pathogène ou non de ce CNV.

## CYTOGÉNÉTIQUE ET REMANIEMENTS CHROMOSOMIQUES

### #2721 : Rôle de la délétion 6q22.1 dans l'épilepsie et les mouvements anormaux

#### Auteurs :

Morgane Plutino (1), Gaëtan Lesca (2), Perrine Charles (3), Fanny Mochel (4), Isabelle Marey (3), Nathalie Guillot (5), Alice Masurel (6), Laurence Olivier-Faivre (6), Boris Keren (7), Patrick Callier (8), Audrey Labalme (1), Damien Sanlaville (1), Caroline Schluth-Bolard (1)

1. Service de génétique, laboratoire de cytogénétique constitutionnelle, Centre de Biologie et Pathologie Est, Hospices Civils de Lyon, Bron, France
2. Service de génétique médicale, Hôpital mère enfant, hospices civils de Lyon, Bron, France
3. Département de génétique, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Paris, France
4. Département de génétique, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Brain and Spine Institute - INSERM UMR S1127 & Head of Neurometabolic research group, Paris, France
5. Service de neuropédiatrie, Hôpital mère enfant, hospices civils de Lyon, Bron, France
6. Service de génétique - Pôle pédiatrie, CHU de Dijon - Complexe du Bocage, Dijon, France
7. Centre de Génétique Moléculaire et Chromosomique, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Paris, France
8. Laboratoire de cytogénétique, Plateau technique de biologie, CHU de Dijon, Dijon, France

**Mots clefs :** 6q22.1, épilepsie, déficience intellectuelle, ACPA

#### Résumé :

Des variations du nombre de copies ont été décrites comme responsables d'épilepsies et de pathologies neurodéveloppementales. Une étude publiée en 2015 (Szafranski *et al.*, 2015) par analyse chromosomique sur puce à ADN (ACPA) chez 6 patients non apparentés a permis d'identifier une région de susceptibilité en 6q22.1 et de délimiter une région minimale critique délétée d'environ 250kb. Trois des 6 patients présentaient une épilepsie, dont 2 patients une épilepsie-absence atypique et un patient une épilepsie pharmaco résistante. La région délétée contient notamment le gène *NUS1* exprimé au niveau du cerveau, ainsi que des séquences régulatrices du gène *SLC35F1*. Une haploinsuffisance de ces 2 gènes pourrait jouer un rôle dans l'apparition de pathologies neurodéveloppementales.

Nous présentons ici 6 nouveaux patients porteurs d'une microdélétion 6q22.1 détectées par ACPA. Ces patients ne sont pas apparentés et sont suivis dans 3 centres français.

Cinq patients présentent une délétion chevauchante emportant la région déjà décrite par Szafranski. Un sixième patient présente une délétion en amont de cette région critique héritée d'un parent sain, associée à une déficience intellectuelle, sans mouvements anormaux, ni épilepsie, nous permettant d'éliminer, à priori la pathogénicité de cette région. Sur le plan phénotypique, les patients dont la délétion emporte la région critique minimale présentent une déficience intellectuelle variable, légère à modérée. Un retard de langage est noté chez 4 d'entre eux. Une épilepsie nécessitant un traitement médicamenteux est présente chez 4/5 patients, des myoclonies prédominant aux membres supérieurs sont mises en évidence chez 3/5 patients et un syndrome cérébelleux statique et cinétique est retrouvé chez 3/5 patients.

Les 4 patients porteurs d'une délétion emportant à la fois les gènes *SLC35F1* et *NUS1* ont tous présenté des crises d'épilepsie. En revanche, la patiente porteuse de la délétion n'incluant pas *NUS1* présente une déficience intellectuelle moins sévère, sans retard de langage et associée à des myoclonies.

Nos résultats confirment les données récentes de la littérature. L'étude des corrélations génotype-phénotype permettra de délimiter de façon plus précise la région critique et les gènes impliqués dans le phénotype clinique (déficience intellectuelle, épilepsie, mouvements anormaux).

**#2765 : CTNND2 n'est pas lié à la déficience intellectuelle**

**Auteurs :**

Gérald BUSSY (1), Marine LEBRUN (1), Bénédicte de FREMNIVILLE (1), Renaud TOURAINE (1)

1. génétique, CHU Nord, Saint Etienne, France

**Mots clefs :** Cri du Chat, 5p-, CTNND2, déficience intellectuelle

**Résumé :**

Le syndrome du Cri-du-Chat (CdC) est consécutif à une délétion terminale du bras court du chromosome 5. La déficience intellectuelle qui semble inhérente à ce syndrome et souvent qualifiée de sévère (Medina *et al.*, 2000) serait principalement générée par la délétion du gène *CTNND2* (5p13). Cependant, bien que cet axiome soit unanimement reconnu, nous apportons au travers d'une étude de la littérature et de deux cas cliniques d'enfants présentant le CdC, la confirmation qu'une délétion du gène *CTNND2* ne génère pas systématiquement de déficience intellectuelle. Dans un premier temps, nous reprenons les études de Belcaro *et al.* (2015) et Asadollahi *et al.* (2014) qui ont décrit des cas cliniques d'enfants présentant des délétions de *CTNND2* et qui ont conclu à tort à une déficience intellectuelle. Les enfants décrits présentent des QI moyens bas mais avec une forte hétérogénéité des performances qui font évoquer des troubles du neurodéveloppement (dyspraxie, dysphasie) en l'absence de déficience intellectuelle. Dans un second temps, nous présentons deux cas d'enfants porteurs du CdC avec délétion de *CTNND2* mais qui ne présente pas de déficience intellectuelle. Le premier cas fut décrit par Marignier *et al.* (2012). Cette jeune fille de 11 ans présentait une dyspraxie verbale mais ses capacités intellectuelles se trouvaient en dehors du champ de la déficience. Le second cas est une jeune fille de 5 ans qui, malgré un retard dans son développement et un trouble du langage massif associé à des difficultés motrices, présente un vocabulaire en production et en réception dans la norme des enfants de son âge. Cette jeune fille présente vraisemblablement une dyspraxie verbale. Ces études de cas amènent à reposer la question du lien entre une délétion du gène *CTNND2* et la déficience intellectuelle, point important pour le conseil génétique.

**CYTOGÉNÉTIQUE ET REMANIEMENTS  
CHROMOSOMIQUES**

**#2768 : Evaluation des délétions et duplications distales 22q11. Un phénotype très variable.**

**Auteurs :**

geneviève pierquin (1), saskia bulk (1)

1. génétique clinique, CHU Liège, Liège, Belgique

**Mots clefs :** distal 22q11

**Résumé :**

De nombreux patients ont été décrits ayant des délétions et duplications distales atypiques récurrentes. Elles sont localisées distalement par rapport à la région commune impliquée dans le syndrome vélo-cardio-facial. Pourtant, le phénotype n'est pas constant et on peut retrouver ces aberrations chez des individus phénotypiquement normaux, ce qui pourrait être dû à une pénétrance variable, une expressivité variable, ou une incapacité à reconnaître des manifestations plus subtiles d'un phénotype. Ceci provoque une grande difficulté pour l'interprétation du diagnostic. C'est pourquoi nous présentons une étude rétrospective de patients pour tenter d'identifier les symptômes les plus typiques et discuter de leur implication .

## CYTOGÉNÉTIQUE ET REMANIEMENTS CHROMOSOMIQUES

### #2771 : Caractérisation d'une anomalie chromosomique déséquilibrée par ACPA : corrélation génotype/phénotype

#### Auteurs :

Servane Alirol (1), Nora Chelloug (1), Luc Druart (2), Benoit Dessay (1), Edith Terrenoire (1), Benoit Lautier (1), Nathalie Pasquier (1), Nathalie Ronce (1), Annick Toutain (1)

1. Service de Génétique, CHRU Bretonneau, Tours, France
2. , Laboratoire Biomnis, Paris, France

**Mots clefs :** ACPA, ARSE, SHOX, PAR1, retard statural

#### Résumé :

Les remaniements chromosomiques déséquilibrés impliquant les gonosomes sont très rares chez l'homme. Nous rapportons le cas d'un garçon âgé de 9 ans présentant une formule chromosomique : 46,X,der(X)t(X;Y)(p22.3;p11.2).ish(SHOX+,SRY+,DXZ1+)dn détecté sur le caryotype réalisé dans le cadre d'un bilan de petite taille et de suspicion de maladie de Madelung.

La consultation de génétique a retrouvé sur le plan clinique : un retard statural modéré (traitement hormonal depuis environ 2 ans), une zone d'alopecie frontale, des troubles obsessionnels compulsifs, des difficultés d'acquisition du langage et d'acquisitions scolaires, et sur la radiographie une incurvation radiale haute sans anomalie de Madelung.

Une analyse sur puce (Agilent 180K, patient contre référence mâle) a mis en évidence une microdélétion au niveau du point de cassure, emportant en particulier les gènes de la famille des arylsulfatases (ARS) localisés dans la partie très proximale de la bande Xp22.33, la présence des deux copies de la région PAR1 comprenant le gène *SHOX* (MIM 312865) et une délétion du chromosome Y (p11.1- > qter).

Nous avons donc complété notre étude (CGH patient/référence femelle, QPCR du gène *ARSE* (MIM 300180), BAC-FISH, inactivation de l'X) afin d'établir une corrélation Génotype/Phénotype et d'émettre des hypothèses concernant les effets du remaniement sur les gènes *ARSE* et *SHOX*.

## CYTOGÉNÉTIQUE ET REMANIEMENTS CHROMOSOMIQUES

**#2772 : Translocation non réciproque apparemment équilibrée et infertilité masculine: premier cas d'une association d'une translocation rare t(8 ;14)(q21.2 ;p13) avec une azoospermie.**

### Auteurs :

Valerie KOUBI (1), Marie-France PORTNOI (2), Elise ALABRE (3), Dominique LALET (1), Christelle LAMON (1), Mathieu MADELEINE (1), Patrice RAVENAU (4)

1. , Laboratoire Eylau Unilabs, Neuilly-sur-Seine, France
2. , Hôpital Trousseau, PARIS, France
3. , Laboratoire Eylau, Neuilly-sur-Seine, France
4. , Clinique de la Muette, Paris, France

**Mots clefs :** translocation non réciproque, azoospermie

### Résumé :

Au cours des bilans d'infertilité, les anomalies chromosomiques sont plus fréquentes chez les hommes présentant une anomalie du spermogramme. Dans ce contexte, les anomalies des gonosomes sont prédominantes (nombre ou structure) mais également les anomalies de structure autosomiques dont les translocations réciproques et robertsoniennes (3-13%)(1). Plus récemment, une équipe des Pays-Bas a démontré que ces anomalies étaient plus fréquentes dans le contexte d'azoospermie (15%) que pour les autres cas d'hypospermie (2.3%)(2).

Les translocations réciproques équilibrées sont présentes dans environ 0.9-1.4/1000 naissances. Elles sont pour la plupart diagnostiquées chez les parents d'un enfant porteur d'une forme déséquilibrée de la translocation, au cours d'un bilan de fausses-couches à répétition, lors de troubles de la fertilité ou plus rarement il s'agit d'une découverte fortuite. Les translocations non réciproques équilibrées sont extrêmement rares et impliquent de façon générale un chromosome acrocentrique. Leur mode de découverte est identique à celui des translocations réciproques équilibrées.

Nous décrivons ici le cas d'un patient adressé pour bilan d'une azoospermie et chez lequel une translocation NON réciproque apparemment équilibrée t(8 ;14)(q21.2 ;p13) a été découverte. Le reste du bilan hormonal et génétique de ce patient est sans anomalie.

Nous discutons les différents modes de ségrégation possibles d'un tel remaniement, en particulier en raison du point de cassure en aval de la région NOR sur le der(14), les conséquences pour la prise en charge du couple, et quelles peuvent être les corrélations avec l'absence de spermatogenèse observée. Une diminution du nombre de recombinaisons méiotiques au niveau des chromosomes impliqués dans la translocation, combinée à une inactivation de la transcription pourrait être à l'origine d'un arrêt précoce méiotique et aboutir à une azoospermie, comme l'ont montré les résultats d'une étude récente (3).

Il s'agit à notre connaissance du premier cas décrit de ce type de translocation associé à un trouble majeur de la spermatogenèse.

## CYTOGÉNÉTIQUE ET REMANIEMENTS CHROMOSOMIQUES

### #2779 : Démasquage d'une mutation récessive : un mécanisme fréquent à l'origine de la pénétrance incomplète des CNVs

#### Auteurs :

Matthieu EGLOFF (1), Jeanne AMIEL (2), Tania ATTIE-BITACH (1), Stanislas LYONNET (2), Arnold MUNNICH (2), Marlène RIO (2), Michel VEKEMANS (1), Serge ROMANA (1), Valérie CORMIER-DAIRE (2), Laurence COLLEAUX (3), Valérie MALAN (1)

1. Histologie - Embryologie - Cytogénétique, Hopital Necker Enfants-Malades - APHP - Paris, Paris, France
2. Génétique médicale, Hopital Necker Enfants-Malades - APHP - Paris, Paris, France
3. Molecular and pathophysiological bases of cognitive disorders, Institut Imagine, Paris, France

#### Résumé :

La CGH array permet de détecter des déséquilibres génomiques appelés CNVs (Copy Number Variants) non visibles au caryotype. Si le caractère bénin ou pathogène de certains CNVs est bien connu, d'autres CNVs ont une pénétrance incomplète et/ou une expressivité variable et posent de réels problèmes pour le conseil génétique. Différentes hypothèses ont été proposées pour expliquer cette variabilité phénotypique dont le démasquage d'une mutation récessive sur l'allèle controlatéral en cas de délétion. A ce jour, plusieurs exemples ont été rapportés dans la littérature mais la fréquence de ce mécanisme n'a jamais été évaluée dans une série de patients.

Nous avons inclus dans notre étude 19 patients présentant une déficience intellectuelle syndromique porteurs d'un CNV hérité d'un parent sain. L'objectif était de préciser la fréquence d'un deuxième événement de type mutationnel sur l'allèle non délété qui permettrait d'expliquer la variabilité phénotypique entre le parent et son enfant. Un séquençage de tous les gènes compris dans le segment controlatéral de la délétion a été effectué, par séquençage d'exome chez 14 patients et par la méthode Sanger chez 5 patients. Cette stratégie nous a permis d'identifier un variant candidat pouvant expliquer le phénotype chez 2/19 (10.5%) de nos patients. Des études fonctionnelles sont actuellement en cours afin de confirmer ou non la pathogénicité des variants identifiées et leur implication dans les phénotypes observés.

Ces résultats montrent que le démasquage d'une mutation récessive est un mécanisme fréquent à l'origine de la pénétrance incomplète de certains CNVs hérités. Ainsi, la mise en évidence d'une délétion chez un patient présentant un déficit intellectuel syndromique héritée d'un parent sain soulève la question du séquençage systématique des gènes compris dans le segment controlatéral.

## CYTOGÉNÉTIQUE ET REMANIEMENTS CHROMOSOMIQUES

### #2781 : Caractérisation moléculaire de deux cas atypiques de remaniements méiotiques d'inversions paracentriques

#### Auteurs :

Paul Kuentz (1), Boris Keren (2), Alice Masurel (3), Anne-Laure Mosca (1), Nathalie Marle (1), Marie Eliade (3), Muriel Payet (1), Clémence Ragon (1), Laurence Faivre (3), Patrick Callier (1)

1. Laboratoire de génétique chromosomique et moléculaire, Plateau Technique de Biologie, CHU Dijon, Dijon, France
2. Département de génétique, APHP, UPMC Inserm, UMR7225, ICM, GH Pitié-Salpêtrière, Paris, France
3. Service de pédiatrie 1 et de génétique médicale, CHU Dijon, Dijon, France

**Mots clefs :** Inversion paracentrique, remaniement méiotique, diagnostic prénatal

#### Résumé :

Les inversions paracentriques, caractérisées par deux cassures au niveau du même bras chromosomique, entraînent des difficultés d'appariement méiotique, avec le plus souvent formation d'une boucle d'inversion. Une aneusomie de recombinaison dans le segment inversé peut générer des gamètes porteurs de duplication/déficiences distales par rapport aux points de cassure de l'inversion, avec formation de dérivés dicentrique et acentrique instables et donc une viabilité embryonnaire faible. Nous rapportons deux cas atypiques de remaniements méiotiques d'inversions paracentriques caractérisés par CGH-array chez des sujets présentant une déficience intellectuelle syndromique, avec un caryotype conventionnel considéré comme normal.

Pour le premier cas, la CGH-array a montré une duplication sous-télomérique 8p23.3p23.1 d'environ 5,2 Mb associée à une délétion 8p23.1p21.3 d'environ 10,3 Mb. Ce remaniement chromosomique est en miroir du remaniement récurrent inv dup del(8p) secondaire à la présence d'une inversion quasiment toujours maternelle 8p23.1 présente dans environ un quart de la population. En effet, celui-ci est caractérisé par une délétion télomérique et une duplication distales à l'inversion commune 8p23.1. Pour le deuxième cas, la CGH-array a montré la présence d'une délétion 11q14.1q14.3 d'environ 10,7 Mb et d'une duplication 11q14.3q22.1 d'environ 10,5 Mb. L'analyse FISH a confirmé ces deux remaniements chromosomiques et a montré une inversion paracentrique maternelle inv(8)(p23.3p22) pour le premier cas et une inversion paracentrique paternelle inv(11)(q14.1q22.1) pour le second cas. L'inversion paracentrique s'est transmise chez nos deux cas sur un mode déséquilibré inhabituel et différent du dérivé classiquement décrit. Le mécanisme proposé implique, au niveau de la boucle d'inversion, non pas un crossing-over mais une cassure double brin suivie d'une réunion en U (*U-type exchange*), générant des dérivés avec duplication/déficiences à l'intérieur de la boucle. Nous vérifierons notre hypothèse par une analyse de type SNP-array.

Ces deux remaniements chromosomiques issus du déséquilibre d'une inversion paracentrique parentale nous amènent à discuter la pertinence d'un diagnostic prénatal.

## CYTOGÉNÉTIQUE ET REMANIEMENTS CHROMOSOMIQUES

### #2801 : Identification d'une nouvelle translocation cryptique t(4;21)(p16;q22) associée à des anomalies 5q dans un cas de leucémie aigue myéloïde pédiatrique

#### Auteurs :

Estelle Balducci (1), John Boudjarane (1), Emilie Alazard (1), Marie Loosveld (2), Vanessa Nivaggioni (2), Nathalie Grardel (3), Claire Oudin (4), Gerard Michel (4), Chantal Missirian (1), Hélène Zattara (1), Marina Lafage-Pochitaloff (1)

1. Laboratoire de cytogénétique onco-hématologique, Hôpital de la Timone, Marseille, France
2. Laboratoire d'hématologie, Hôpital de la Timone, Marseille, France
3. Laboratoire d'hématologie, C.H. Régional Universitaire de Lille, Lille, France
4. Service d'hématologie et oncologie pédiatrique, Hôpital de la Timone, Marseille, France

**Mots clefs :** Leucémie aigue myéloïde, t(4;21)(p16;q22), RUNX1, AML1

#### Résumé :

Le gène RUNX1, localisé en 21q22, est un facteur de transcription qui régule l'expression de différents gènes hématopoïétiques. Il s'agit de l'un des gènes les plus fréquemment impliqués dans les translocations chromosomiques dans les leucémies avec près de 20 gènes partenaires identifiés. Nous décrivons ici le cas d'un jeune garçon âgé de 14 ans présentant une leucémie aigue myéloïde LAM-M0. À son diagnostic, il présente une asthénie probablement due à une anémie profonde (Hb :4.2 g/dL). Les frottis sanguins montrent 80 % de cellules immatures et le myélogramme révèle 95 % de blastes positifs pour le CD13, le CD34, le CD117, le CD7 et le CD56 en cytométrie en flux. Les analyses de cytogénétique conventionnelle ont identifié un clone anormal avec une délétion 5q. La délétion des gènes EGR1 (5q31) et CSF1R (5q33-q34) sur le chromosome 5 a été confirmée par FISH. L'analyse systématique utilisant la sonde de réarrangement LSI RUNX1/RUNX1T1 met en évidence trois signaux pour le RUNX1. Les analyses de FISH métaphasique montrent que le 3<sup>ème</sup> signal RUNX1 est localisé sur le bras court du chromosome 4. Des études complémentaires utilisant la sonde 4p télomérique détectent une translocation cryptique t(4;21)(p16;q22). Notre cas présente des similitudes avec les cas de LAM avec translocation récurrente t(7;21)(p22;q22) caractérisés par l'expression aberrante des marqueurs lymphoïdes CD56 et CD7, la perte de matériel en 5q comme anomalie additionnelle, l'absence d'hyperleucocytose et une anémie macrocytaire sévère. L'anémie macrocytaire peut être reliée à la délétion 5q. En effet, il a été suggéré que le défaut d'érythropoïèse pouvait être associé à l'haploinsuffisance des gènes ribosomaux sur le chromosome 5q, tel que RPS14, comme décrit dans les syndromes myélodysplasiques 5q-. A notre connaissance, nous rapportons le premier cas de translocation cryptique t(4;21)(p16;q22) impliquant le gène RUNX1 associé à des anomalies 5q au cours d'une LAM-MO pédiatrique. Des analyses complémentaires sont en cours dans le but d'identifier le gène partenaire de la translocation.

## CYTOGÉNÉTIQUE ET REMANIEMENTS CHROMOSOMIQUES

**#2819 : Délétion de PFAH1B1 sans lissencéphalie : mosaïcisme et probable biais de culture démasqués par CGH array**

### Auteurs :

Francois Lecoquierre (1), Geraldine Joly-Hélas (1), Alice Goldenberg (2), Nicolas Mathieu (3), Catherine Vittecoq (4), Stephane Marret (5), Thierry Frebourg (2), Bertrand Macé (1), Pascal Chambon (1)

1. Laboratoire de Cytogénétique, CHU de Rouen , Centre Normand de Génomique Médicale et Médecine Personnalisée, Rouen, France
2. Service de Génétique, CHU de Rouen , Centre Normand de Génomique Médicale et Médecine Personnalisée, Rouen, France
3. Service de Gynécologie-Obstétrique, CHI Elbeuf-Louviers-Val de Reuil, Elbeuf, France
4. Service de Pédiatrie, CHI Elbeuf-Louviers-Val de Reuil, Elbeuf, France
5. Pédiatrie Néonatale et Réanimation, CHU de Rouen, Rouen, France

**Mots clefs :** mosaïque, CGH array, LIS1, PFAH1B1, YWHAE, biais de culture

### Résumé :

Le développement des explorations chromosomiques par microarray a permis de préciser la relation génotype-phénotype des microdélétions 17p13. Le syndrome de Miller-Dieker, considéré comme un syndrome des gènes contigus, correspond à une délétion couvrant à la fois les gènes *PFAH1B1*, dont l'haploinsuffisance se traduit systématiquement par des anomalies graves de la gyration, et *YWHAE*, responsable des éléments syndromiques caractéristiques (dysmorphie, malformations, retard léger à modéré du développement). Nous présentons une patiente de 18 mois, dont l'histoire clinique associe retard de croissance pré et post natal, hypotonie, dysmorphie faciale, retard global modéré des acquisitions et anomalies oculaires. L'IRM cérébrale ne montrait pas de lissencéphalie et le syndrome de Miller-Dieker n'avait pas été évoqué. Le caryotype sanguin a mis en évidence une délétion d'aspect homogène d'un fragment du bras court d'un des deux chromosomes 17. L'analyse par FISH a confirmé une délétion subtélomérique et a montré la délétion du gène *PFAH1B1* dans les 5 métaphases analysées. La cartographie du remaniement par CGH-array a révélé un profil atypique avec trois délétions contiguës d'environ 2Mb chacune couvrant l'intervalle 17p13.3p13.2. Chacune de ces trois régions montrait un ratio de fluorescence différent, évoquant un mosaïcisme. La région la plus télomérique comprenant notamment le gène *YWHAE* présentait un ratio compatible avec une délétion homogène. La région comprenant le gène *PFAH1B1* présentait un ratio compatible avec une délétion en mosaïque dans environ 40% des lymphocytes sanguins. De nouvelles explorations par FISH ont confirmé le mosaïcisme mais n'ont identifié que 5% de cellules sans délétion de *PFAH1B1*. Cette discordance entre la proportion de mosaïque calculée d'après le ratio de CGH-array (sans culture lymphocytaire) et celle visualisée en FISH (après culture), nous a fait évoquer un avantage sélectif inhabituel parce qu'en faveur de la population cellulaire porteuse de la délétion. La présence d'une proportion importante de cellules sans délétion de *PFAH1B1* (sans données concernant le tissu cérébral cependant), explique certainement l'absence de lissencéphalie chez notre patiente. Au contraire la perte homogène d'*YWHAE* semble jouer un rôle prépondérant, le tableau observé étant très proche des observations rapportées de délétions centrées sur ce gène. Le mécanisme à l'origine de ce remaniement complexe est incertain. L'addition de plusieurs remaniements au sein d'une même région chromosomique aurait pu faire évoquer un chromotrypsis, mais l'existence de plusieurs populations cellulaires, en faveur d'évènements distincts temporellement, n'est pas en faveur de cette hypothèse. En conclusion, l'examen attentif du profil de CGH array dans ce cas a permis de comprendre la discordance entre les analyses cytogénétiques initiales qui orientaient vers un syndrome de Miller-Dieker et la présentation clinique incompatible car moins sévère.

**#2827 : Obésité sévère et retard moteur associés à une duplication 6q25.2-**

**Auteurs :**

Stephan Kemeny (1), Céline Pebrel-Richard (1), Eleonore Eymard-Pierre (1), Cyrielle Cothenet (2), Gaelle Salaun (1), Laetitia Gouas (1), Carole Goumy (1), Christine Francannet (3), Fanny Laffargue (3), Philippe Vago (1)

1. Service de Cytogénétique, CHU Estaing, Clermont-Ferrand, France
2. Service de Pédiatrie Générale, CHU Estaing, Clermont-Ferrand, France
3. Service de Génétique Médicale, CHU Estaing, Clermont-Ferrand, France

**Mots clefs :** duplication 6q, obesité, retard moteur, IGF2R

**Résumé :**

Les duplications partielles isolées du bras long du chromosome 6 sont peu rapportées dans la littérature. Malgré des régions dupliquées de taille et de localisation variable un «syndrome de duplication 6q» semble émerger grâce aux différentes descriptions phénotypes sans qu'aucun gène candidat n'ait été retenu du fait de l'absence de caractérisation moléculaire fine. Ce syndrome se caractérise par une dysmorphie cranio-faciale avec un hypertélorisme, des fentes palpébrale oblique en bas et en dehors, une implantation basse des cheveux, une bouche en chapeau de gendarme et un cou court et large. On retrouve également une déficience intellectuelle, des atteintes articulaires, un retard de croissance pré et/ou post natal, une microcéphalie et des malformations cardiaques, cérébrales, et uro-génitales.

Nous rapportons le cas d'un enfant de 12 mois adressé pour avance staturo-pondérale, macrocéphalie majeure, légère dysmorphie et retard neuro-moteur. L'ACPA a mis en évidence une duplication de 8 Mb en 6q25.2-q26 [152 909 152 - 161 137 717 (hg19)] comprenant 43 gènes Refseq. Parmi ces gènes, cinq ont été retenus comme gènes candidats : deux pouvant être impliqués dans le retard neuro-moteur (*ARID1*, *SYNE1*) et trois dans l'avance staturo-pondérale (*TFB1M*, *IGF2R* et *OPRM1*). Une étude d'expression sur fibroblastes a été réalisée pour ces cinq gènes et a permis de révéler une surexpression d'*ARID1* et de *SYNE1*. Aucune expression n'a pu être quantifiée pour les trois gènes restants (*TFB1M*, *IGF2R* et *OPRM1*). Compte tenu du rôle potentiel dans l'avance staturo-pondérale, l'expression d'*IGF2R* a également été évaluée à partir d'une lignée lymphoblastoïde mais ne semble pas être modifiée chez notre patient.

Seul quatre cas de duplications 6q, chevauchant partiellement la région ici dupliquée, ont été rapportés dans la littérature. Notre patient partage certains traits phénotypiques du syndrome de duplication 6q à savoir un hypertélorisme, une bouche en chapeau de gendarme, un cou court et large ainsi qu'un retard neuro-moteur. Par ailleurs, l'analyse d'expression a permis de mettre en évidence une surexpression importante des gènes *ARID1* et *SYNE1* impliqués tous deux au niveau cérébral. Ces gènes pourraient donc participer au retard neuro-moteur observé chez notre patient. Parmi les trois autres gènes étudiés l'absence d'expression des gènes *TFB1M* et *OPRM1* au niveau fibroblastique et l'absence de modification d'expression d'*IGF2R* ne permettent pas de corrélérer directement ces gènes à l'avance staturo-pondérale du patient. Cependant d'autres mécanismes moléculaires pourraient intervenir impliquant en particulier *IGF2R* soumis à empreinte et identifié comme responsable d'obésité syndromique en cas de duplication d'origine paternelle. Une étude de l'origine parentale de l'allèle dupliqué est en cours afin de préciser le rôle d'*IGF2R* dans le phénotype de notre patient.

**#2829 : Microdélétions 7q36.1 emportant le gène *EZH2* : 1ère description phénotypique**

**Auteurs :**

Camille Louvrier (1), Marie-Pierre Cordier (2), Audrey Putoux (2), Sarra Dimassi (3), Audrey Labalme (3), Marianne Till (3), Patrick Edery (4), Damien Sanlaville (4), Caroline Schluth-Bolard (3)

1. Service de Génétique, GHE, Hospices Civils de Lyon, Bron, France
2. Service de Génétique, Unité de Génétique Clinique, Hôpital Femme Mère Enfant, Hospices Civils de Lyon, Bron, France
3. Service de Génétique, Laboratoire de Cytogénétique Constitutionnelle, Centre de Biologie et de Pathologie Est, Hospices Civils de Lyon, Bron, France
4. Service de Génétique; Equipe TIGER, INSERM U1028, CNRS UMR 5292, GHE, Hospices Civils de Lyon; CNRL, UCBL1, Bron, France

**Mots clefs :** *EZH2* - délétion 7q36.1 – Syndrome de Weaver

**Résumé :**

Le gène *EZH2*, localisé en 7q36.1 code pour une histone méthyl-transférase, impliquée dans la modélisation de la chromatine. En 2011, des mutations de ce gène *EZH2* ont été identifiées comme responsables du syndrome de Weaver (SW), une entité clinique associant avance staturale, dysmorphie faciale et déficience intellectuelle. Toutes les mutations rapportées depuis sont des mutations faux-sens (90%) et des mutations non-sens impliquant le dernier exon (10%). Aucune délétion n'a été décrite à ce jour.

Nous rapportons trois patients porteurs d'une délétion de la région 7q36.1 emportant le gène *EZH2*. Les délétions ont été identifiées par analyse chromosomique sur puce à ADN (ACPA) et vérifiées par FISH et avaient une taille de 2,3Mb (chr7:148,132,395-150,430,589) pour le patient 1 (P1), 3,8 Mb (chr7:148,405,432-152,171,289) pour le patient 2 (P2) et 6,3 Mb (chr7:145,397,037-151,748,912) pour le patient 3 (P3). Ces patients ne présentaient pas d'autres CNV pathogènes associés.

Sur le plan phénotypique, les trois patients ont un retard des acquisitions léger à modéré. Ils présentent également des particularités morphologiques similaires : un front large (3/3), des fentes palpébrales en amandes (3/3), un menton pointu (3/3), une pointe du nez ronde et de grandes oreilles (3/3), un hypertélorisme (2/3). Une maladresse, des troubles de la coordination sont également notés (3/3). En ce qui concerne la croissance, le patient P1 a une taille à +2 déviations standards (DS), la patiente P2 a une taille à +1 DS et le patient P3 a une taille à -1 DS. Aucun patient ne présente de macrocéphalie.

Ces trois patients présentent donc certains des signes majeurs décrits dans le SW, notamment un retard des acquisitions modéré et des éléments morphologiques faciaux. En revanche, l'avance staturale n'est pas retrouvée, seul le patient P1 a une taille à la limite supérieure de la normale. Dans cette étude, la taille de nos patients est inversement proportionnelle à la taille de la délétion : le patient porteur de la plus petite délétion emportant le gène *EZH2* seul présente le phénotype le plus proche du SW alors que le patient porteur de la plus grande délétion présente le phénotype clinique le plus discret.

Ce travail rapportant la 1<sup>ère</sup> description de patients présentant une délétion du gène *EZH2* permet de poser l'hypothèse que l'impact de la délétion d'*EZH2* sur le phénotype s'atténue avec l'augmentation de la taille de la délétion. L'étude d'une plus large cohorte de patients est nécessaire pour confirmer ces résultats.

## CYTOGÉNÉTIQUE ET REMANIEMENTS CHROMOSOMIQUES

### #2837 : La duplication du gène ARID1A comme nouvelle cause de microcéphalie syndromique.

#### Auteurs :

Marie Bidart (1), Michèle El Atifi (1), Sarra Miladi (1), Véronique SATRE (2), John rendu (3), Klaus Dieterich (4), Clémentine Wambergue (2), Daphné Lehalle (5), Valérie Malan (6), Julien Thevenon (7), Mencarelli Maria Antonietta (8), Margherita Baldassarri (8), Jill Clayton-Smith (9), Gaëlle Vieville (2), Françoise DEVILLARD (2), Florence AMBLARD (2), François BERGER (1), Pierre-Simon JOUK (4), Charles COUTTON (2)

1. UF Clinattec, Pole recherche, CHU Grenoble, Grenoble, France
2. Laboratoire de Génétique Chromosomique, CHU Grenoble, Grenoble, France
3. UF de Biochimie Génétique et Moléculaire, CHU Grenoble, Grenoble, France
4. Génétique Clinique, CHU Grenoble, Grenoble, France
5. Service de Cytogénétique, Hôpital Necker Enfants-Malades, PARIS, France
6. Service de Cytogénétique et UMR\_S1163 IHU Imagine Tour Pasteur, Hôpital Necker Enfants-Malades, PARIS, France
7. Centre de Génétique et Centre de Référence «Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs», CHU Dijon, Dijon, France
8. Medical Genetics, Department of Medical Biotechnologies, University of Siena, Policlinico 'Santa Maria alle Scotte, Siena, Italie
9. Manchester Centre for Genomic Medicine, Central Manchester University Hospitals, Manchester, Royaume Uni

**Mots clefs :** ARID1A, microcéphalie, déficience intellectuelle, duplication, array-CGH, RNA sequencing, NGS, siRNA, suppresseur de tumeur, PLK1, Coffin-Siris, complexe SWI-SNF

#### Résumé :

La protéine ARID1A est une des sous-unités du complexe SWI-SNF (SWItch/Sucrose Non-Fermentable), large complexe protéique de remodelage de la chromatine impliqué dans la régulation épigénétique de l'expression des gènes, la prolifération, la différenciation cellulaire et la réparation de l'ADN. ARID1A joue notamment un rôle important comme suppresseur de tumeurs. L'haplo-insuffisance du gène *ARID1A* a été associée à de nombreuses pathologies acquises mais aussi plus récemment dans des pathologies neuro-développementales constitutionnelles comme le syndrome de Coffin-Siris. Dans cette étude, nous décrivons pour la première fois l'analyse phénotypique, génomique et moléculaire de 4 patients présentant une microduplication du gène *ARID1A*.

Grâce à une collaboration européenne, 4 patients ayant une microduplication en 1p36.11 et comprenant le gène *ARID1A* ont été inclus dans notre étude. Les données génomiques obtenues par CGH-array chez ces 4 patients ont permis de définir une région minimale commune de 122 kb comprenant intégralement le gène *ARID1A*. L'étude clinique des 4 patients montrent un tableau clinique similaire associant notamment une microcéphalie, un retard global de développement, une dysmorphie, des anomalies des extrémités, des troubles gastro-intestinaux, un retard de croissance ainsi que des stéréotypies. Ces données cliniques confortent l'idée que la duplication du gène *ARID1A* puisse être à l'origine d'un nouveau syndrome.

A partir de l'ARN extrait de cultures de fibroblastes chez 2 de ces patients, nous avons pu démontrer que le gène *ARID1A* était surexprimé chez ces patients. Nous avons ensuite réalisé l'étude du transcriptome par séquençage nouvelle génération (NGS). Les résultats obtenus mettent en évidence différentes voies canoniques dérégulées de manière significative chez deux nos patients dont la voie polo-like kinase (*PLK*) et des voies impliquées dans les mécanismes moléculaires des microcéphalies. De manière intéressante, le phénotype présenté par nos patients ressemble très fortement au tableau clinique des patients avec une microduplication du gène *PLK1*. De plus, l'étude moléculaire par siRNA anti-ARID1A nous a permis de confirmer le lien entre la duplication du gène *ARID1A* chez nos patients et la dérégulation de ces voies de signalisation cellulaires. Enfin, l'étude du cycle cellulaire par FACS sur les fibroblastes des patients montre que la surexpression d'*ARID1A* semble conduire à un arrêt du cycle cellulaire en phase G0/G1.

Au final, notre étude présente pour la première fois la description clinique et moléculaire d'un nouveau syndrome avec microcéphalie et déficience intellectuelle impliquant la duplication du gène suppresseur de tumeur, *ARID1A*. Les études moléculaires démontrent que la duplication d'*ARID1A* entraîne un probable gain de fonction de la protéine responsable de perturbations du cycle cellulaire ainsi que de différentes voies cellulaires pouvant expliquer le phénotype commun observé chez nos patients.

## CYTOGÉNÉTIQUE ET REMANIEMENTS CHROMOSOMIQUES

#2874 : Unusual partial trisomy of long arm of chromosome 14 about two Moroccan cases.

### Auteurs :

Hanane Merhni (1), Maria Zerkaoui (2), Abdelhafid Natiq (1), Aziza Sbiti (1), Thomas Liehr (3), Abdelaziz Sefiani (2)

1. Département de Génétique Médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Maroc
2. Centre de Génomique Humaine, Université Mohammed V, Rabat, Maroc
3. Institut für Humangenetik, Universitätsklinikum Jena, Jena, Allemagne

**Mots clefs** : Small supernumerary marker chromosomes, MultiFISH, Partial trisomy, Chromosome 14

### Résumé :

Small supernumerary marker chromosomes (sSMC) are still a major problem in clinical cytogenetics as they are too small to be characterized for their chromosomal origin by traditional banding techniques and require molecular cytogenetic techniques for their identification. Most of the remaining sSMC have not yet been correlated with clinical syndrome, and genotype-phenotype correlation in patients with those abnormalities still difficult to assess.

We report two new Moroccan cases with a polymalformative syndrome in which we identified a supernumerary chromosome marker in all blood cells. MultiFISH have shown that both markers represents a part of the long arm of chromosome 14 with 2 different breakpoints 14q21.2 and 14q21.3. To the best of our knowledge, this partial trisomy of the proximal part of chromosome 14 has been reported in only 3 patients in the literature.

Here by we compare the clinical features of these 2 cases to those of cases from the literature. This report clarifies the clinical implication of this sSMC in polymalformative syndrome and may contribute to a better understanding of the genotype-phenotype correlation in cases with partial trisomy of long arm of chromosome 14.

## CYTOGÉNÉTIQUE ET REMANIEMENTS CHROMOSOMIQUES

**#2886 : Nouvelle délétion en 2q14.1q14.3 emportant les gènes *GLI2* et *RNU4ATAC* associée à une agénésie partielle du corps calleux et un retard de croissance intra-utérin.**

### Auteurs :

Gaëlle SALAUN (1), Mathilde GAY-BELLILE (2), Stephan KEMENY (3), Eleonore EYMARD-PIERRE (2), Laetitia GOUAS (2), Hélène LAURICHESSE (4), Marie BRIARD (5), Céline PEBREL-RICHARD (2), Philippe VANLIEFERINGEN (6), Andrei TCHIRKOV (2), Philippe VAGO (2), Charles ROUZADE (7), Carole GOUMY (2)

1. Cytogénétique Médicale, CHU Estaing, Clermont ferrand, France
2. Cytogénétique Médicale, CHU Estaing, Clermont Ferrand, France
3. cytogénétique Médicale, CHU Estaing, Clermont Ferrand, France
4. Unité de médecine foetale, CHU Estaing, Clermont Ferrand, France
5. Service d'imagerie médicale, CHU Estaing, Clermont Ferrand, France
6. Service de pédiatrie, CHU Estaing, Clermont Ferrand, France
7. Service de pédiatrie, CHR Vichy, Vichy, France

**Mots clefs :** Délétion 2q14, agénésie du corps calleux, retard de croissance intra-utérin, *RNU4ATAC*, *GLI2*

### Résumé :

Nous présentons le cas d'une délétion 2q14.1q14.3 de 5,8 Mb identifiée en prénatal par ACPA chez un fœtus présentant une agénésie partielle du corps calleux associée à un retard de croissance intra-utérin sévère. Cette délétion emporte 24 gènes codants dont 3 impliqués en pathologie : *STEAP3*, *GLI2* et *RNU4ATAC*. La même délétion a été retrouvée chez la mère qui a présenté des difficultés scolaires mais qui n'a pas d'anomalie du corps calleux. A la naissance l'enfant était très hypotrophe et légèrement dysmorphique. A 6 mois le développement psychomoteur était normal.

Dix cas de délétion comprenant la région 2q14.1q14.3 ont été décrits dans la littérature. Le phénotype est très variable, fonction de la taille et de la localisation de la délétion, avec comme traits phénotypiques communs une atteinte cognitive, une dysmorphie faciale et un retard de croissance postnatal. La majorité de ces cas correspond à une délétion de grande taille, survenue *de novo* et seulement deux des cas rapportés sont des délétions héritées de petites tailles.

Ce cas confirme la variabilité d'expression de la délétion 2q14 et montre qu'une agénésie du corps calleux et un retard de croissance intra-utérin peuvent faire partie du phénotype. Le gène *RNU4ATAC* est transcrit en un petit ARN nucléaire impliqué dans l'épissage intronique de nombreux gènes. Des mutations de ce gène sont à l'origine du nanisme microcéphalique ostéodysplasique primordial de type 1 (MOPDI ou syndrome de Taybi-Linder), maladie à transmission autosomique récessive. Cette atteinte sévère du développement est caractérisée par un retard de croissance intra-utérin sévère et des anomalies cérébrales incluant systématiquement une agénésie du corps calleux. Nous émettons l'hypothèse qu'une délétion complète du gène *RNU4ATAC* pourrait participer au phénotype observé chez notre patient par diminution de son activité d'épissage (aucune mutation n'a été mise en évidence sur l'autre allèle chez notre patient). Des mutations perte de fonction du gène *GLI2*, un facteur de transcription cible de la voie Shh, entraînent un phénotype d'holoprosencépalie associé à un hypopituitarisme. L'haploinsuffisance de ce gène pourrait également participer au phénotype de notre patient.

## CYTOGÉNÉTIQUE ET REMANIEMENTS CHROMOSOMIQUES

**#2923 : Le contrôle inter laboratoire en cytogénétique, de la méthode 3D à la certification, revue des 10 années d'expérience de l'ACLF (2005-2015)**

### Auteurs :

martine Doco-fenzy (1), Damien Sanlaville (2), Christine Terre (3), Isabelle Luquet (4), Marie-Christine Combrisson (5), cyril Sarrauste de Menthière (6), Chrysteले Bilhou-Nabera (7), Chantal Missirian (8), Alexis Blanc (9), Jean-Michel Dupont (10)

1. génétique, CHU Reims, Reims, France
2. cytogénétique, CHU centre biologie et pathologie Est, Lyon, France
3. cytogénétique, CHU , versailles, France
4. Service d'hématologie génétique des hémopathies, IUCT Oncopole, Toulouse, France
5. cytogénétique, Laboratoire CYTOGEN, Nantes, France
6. CNRS UPR1142, IGH, Montpellier, France
7. cytogénétique, Hopital St Antoine, Paris, France
8. génétique médicale, Hopital de la Timone, Marseilles, France
9. Qualité, , Paris, France
10. cytogénétique, CHU Cochin, Paris, France

**Mots clefs :** Controle interlaboratoire, EEQ, Qualité, cytogénétique, accréditation

### Résumé :

Dès 2005 le Groupe Français de Cytogénétique Hématologique (GFCH) et l'Association des Cytogénéticiens de Langue Française (ACLF) ont organisé une Evaluation Externe de la Qualité (EEQ) afin de répondre aux normes de certification puis d'accréditation pour les laboratoires de biologie médicale. Ceci été effectuée par l'intermédiaire d'un comité de pilotage nommé par le Conseil d'Administration de l'ACLF.

Initialement ce contrôle inter laboratoires était réalisé de manière prospective sur des échantillons biologiques en cytogénétique hématologique, et de manière rétrospective sur les analyses réalisées par les laboratoires pour la cytogénétique constitutionnelle. Un groupe d'experts cytogénéticiens spécialisés effectuait l'expertise sans support informatique.

Compte tenu du nombre de laboratoires participants, en moyenne 40 laboratoires en onco-hématologie et 60 laboratoires en cytogénétique constitutionnelle, un mode d'évaluation prospectif informatisé sous forme de dossiers d'images proposés a été introduit.

Dès 2007 l'ACLF soutenue par l'Agence de Biomédecine s'est dotée d'un site web et d'un premier logiciel pour la gestion des EEQ en ligne permettant un anonymat et un stockage des données soumises ou proposées.

Puis, en 2009, la société Médifirst a développé un logiciel désormais utilisé pour l'organisation et la gestion des EEQs. Les laboratoires soumettent des images et des comptes rendus en ligne et téléchargent les dossiers prospectifs. Les experts consultent les dossiers en ligne. Les laboratoires utilisent leur droit de réponse en ligne (en moyenne pour 10% des dossiers).

L'EEQ pour la technique de CGH-array (ACPA) est mise en place avec la même solution depuis 2012 avec en moyenne 30 laboratoires participants. Le contrôle est prospectif sur des échantillons d'ADN.

L'expertise est réalisée par les groupes de cytogénéticiens expérimentés encadrés par un superviseur. Des experts juniors sont formés par compagnonnage. Les dossiers sont évalués sur 20 points, selon des critères non subjectifs (exigences de la norme 17025) et tous les items dont la réponse est jugée inadaptée ou inexacte sont argumentés par les experts se référant au Guide de Bonnes Pratiques en Cytogénétique, au Guide de Bonnes Pratiques en ACPA et à l'ISCN. Les performances des laboratoires sont suivies via des notes critiques introduites en 2015 et via un suivi pluriannuel des notes obtenues.

Afin de poursuivre sa démarche vers l'accréditation (norme ISO 17025) du système d'évaluation de la qualité, le comité de pilotage s'est doté d'un système de management de la qualité et sa politique qualité a été communiquée aux laboratoires participants et aux fournisseurs concernés. Ce système est géré sous forme de processus et la documentation est disponible sur le site web de l'ACLF. Enfin, un contrat de participation est désormais signé par les laboratoires souhaitant suivre ces EEQ.

Une demande d'accréditation a été déposée auprès du COFRAC et est en cours d'évaluation

## CYTOGÉNÉTIQUE ET REMANIEMENTS CHROMOSOMIQUES

### #2929 : Difficultés diagnostiques des mosaïques chromosomiques : A propos de quatre cas

#### Auteurs :

Vincent Jauffret (1), Elouan Cherot (1), Sylvie Odent (2), Christèle Dubourg (3), Josette Lucas (1), Mélanie Fradin (2), Chloé Quelin (2), Philippe Loget (4), Laurent Pasquier (2), Florence Demurger (2), Marc-Antoine Belaud-Rotureau (1), Sylvie Jaillard (1)

1. Laboratoire de Cytogénétique et Biologie Cellulaire, Hôpital Pontchaillou, Centre Hospitalier Universitaire de Rennes, Rennes, France
2. Service de Génétique Clinique, Hôpital Sud, Centre Hospitalier Universitaire de Rennes, Rennes, France
3. Laboratoire de Génétique Moléculaire et Génomique Médicale, Hôpital Pontchaillou, Centre Hospitalier Universitaire de Rennes, Rennes, France
4. Service d'Anatomie et Cytologie Pathologiques, Hôpital Pontchaillou, Centre Hospitalier Universitaire de Rennes, Rennes, France

**Mots clefs :** Mosaïque chromosomique, ACPA

#### Résumé :

Une mosaïque chromosomique (MC) est définie comme la présence chez un individu issu d'un zygote unique d'au moins deux populations cellulaires de formule chromosomique différente. Sur le plan clinique, certains syndromes bien documentés montrent un phénotype atténué voire aspécifique lorsque l'anomalie chromosomique est en mosaïque posant ainsi la première difficulté diagnostique.

Nous rapportons ici quatre patients porteurs d'une MC et dont le diagnostic a été rendu possible grâce à l'utilisation de plusieurs techniques de cytogénétique (caryotype, FISH, analyse chromosomique par puce à ADN ou ACPA) réalisées sur des prélèvements tissulaires différents (sang et peau en postnatal, villosités chorales et tissu fœtal en fœtopathologie). Chez ces quatre patients, des résultats discordants ont été observés avec mise en évidence ou identification d'une anomalie chromosomique dans tous les cas par ACPA réalisée à partir des fibroblastes ou du tissu fœtal. Chez la première patiente qui présente un retard psychomoteur, une délétion 18q terminale de 30 Mb a été mise en évidence avec un taux de mosaïcisme estimé à 80%. Le deuxième patient présente un déficit psychomoteur associé à une héli-hypertrophie et une macrosomie post-natale. Un petit chromosome marqueur surnuméraire (SMC) a été mis en évidence sur le caryotype réalisé à partir du sang mais il n'est pas identifié par les techniques de cytogénétique moléculaire (FISH et ACPA). L'ACPA réalisée à partir des fibroblastes a montré que ce SMC dérive du chromosome 19 avec un taux de mosaïcisme estimé à 30-40%. Une nouvelle analyse rétrospective de l'ACPA réalisée à partir du sang a montré que la délétion 18q ainsi que le SMC étaient présents dans le sang avec un faible taux de mosaïcisme. Les 2 derniers cas sont des cas fœtaux : une fausse-couche spontanée (8 SA) ayant bénéficié d'une ACPA en raison de l'existence de fausse-couche répétées chez le couple (caryotype 46,XX / ACPA : une trisomie 22 en mosaïque avec un taux estimé à 60%) et une mort fœtale *in utero* (15 SA) sans malformation majeure à l'examen fœtopathologique (caryotype sur villosités chorales : 46,XX / ACPA sur tissu fœtal : délétion interstitielle 10q21 de 12,5 Mb avec un taux de mosaïcisme d'environ 70%).

Cette étude montre la nécessité d'utiliser différentes techniques de cytogénétique appliquées à des prélèvements provenant de différents territoires tissulaires afin de détecter une MC. L'ACPA confirme son rôle important dans la détection ou l'identification d'une MC, notamment en cas de faible taux de mosaïcisme. Les différentes techniques de cytogénétique conventionnelle ou moléculaire sont cependant complémentaire, ayant chacune leurs limites. L'avènement du séquençage de nouvelle génération en cytogénétique constitutionnelle permettra probablement d'obtenir cette complémentarité au sein d'une seule technique. Néanmoins, la sensibilité de cette technique pour la détection des MC nécessite d'être déterminée.

## CYTOGÉNÉTIQUE ET REMANIEMENTS CHROMOSOMIQUES

**#3075 : Utilité de la CGH array pour le diagnostic anténatal des aneuploidies en mosaïque: A propos d'un cas de trisomie 14 en mosaïque**

### Auteurs :

Marie-Paule Beaujard (1), Benjamin Deloison (2), Chloé Arfeuille (1), Jérôme Le Bidois (2), Tania Attié-Bitach (1), Philippe Roth (2), Marie-Laure Maurin (1), Odile Raoul (1), Michel Vekemans (1), Yves Ville (2), Valérie Malan (1), Romana Serge (1)

1. Service de Cytogénétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France, Paris, France
2. Service de Gynécologie-Obstétrique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France, Paris, France

**Mots clefs :** trisomie 14, CGH array, prénatal

### Résumé :

En postnatal, la trisomie 14 est une anomalie chromosomique très rare associée à un phénotype variable et non spécifique comprenant le plus souvent un retard de développement, un déficit intellectuel, une microcéphalie, une dysmorphie faciale, des anomalies de la pigmentation, une cardiopathie et des anomalies génitales chez le garçon. Seulement 10 cas ont été rapportés en prénatal.

Nous rapportons ici le cas d'une patiente âgée de 37 ans adressée au centre pluridisciplinaire de diagnostic prénatal de l'Hôpital Necker en raison d'une suspicion d'une cardiopathie à l'échographie fœtale du 2<sup>ème</sup> trimestre. L'échographie cardiaque fœtale réalisée par la suite à 29 SA a permis de déceler une nette asymétrie ventriculo-artérielle avec probable bicuspidie aortique. Le couple a été informé du risque de coarctation de l'aorte nécessitant une prise en charge à la naissance. Par ailleurs, la présence d'oreilles bas implantées a été suspectée à l'examen morphologique fœtal de 32 SA. Une CGH array a donc été effectuée à partir de cellules amniotiques non cultivées et a révélé une trisomie 14 en mosaïque. L'étude FISH sur noyaux interphasiques a permis de mettre en évidence environ 20% de cellules aneuploïdes. En raison du pronostic péjoratif de cette anomalie chromosomique, le couple a demandé une interruption médicale de grossesse. L'examen foetopathologique a été refusé par la patiente mais des études FISH à partir de plusieurs prélèvements fœtaux (sang de cordon, frottis jugal, foie, rate) ont confirmé le diagnostic cytogénétique. De façon inattendue, le caryotype fœtal obtenu à partir des cellules amniotiques cultivées n'a pas retrouvé la trisomie 14. Ce résultat a été confirmé par une étude FISH sur 100 cellules. Seul un petit élément surnuméraire était présent dans les 25 métaphases analysées. Il comprenait uniquement le centromère d'un chromosome 14 sans euchromatine. L'étude moléculaire par des marqueurs microsatellites situés sur le chromosome 14 a permis d'exclure la présence d'une disomie uniparentale.

Les zygotes porteurs d'une trisomie homogène ne sont généralement pas viables à l'exception des trisomies 21,13,18 et des trisomies des chromosomes sexuels. La perte du chromosome surnuméraire ou la « réduction » de la trisomie par la formation d'un marqueur ou d'un anneau se produit chez les zygotes qui évoluent. Par ailleurs, le diagnostic cytogénétique peut s'avérer difficile dans certains cas de trisomies en mosaïque car un biais de sélection lors de la culture en faveur des cellules normales peut se produire. Ce phénomène a déjà été décrit pour la trisomie 9.

En conclusion, dans notre cas, la trisomie 14 en mosaïque a été corrigée lors de la culture des amniocytes par la formation d'un marqueur ne comprenant pas de matériel euchromatique. Notre observation illustre l'intérêt de la CGH array pour le diagnostic de certaines trisomies en mosaïque car l'examen est réalisé sur des cellules non cultivées. En effet, cet examen permet de s'affranchir d'un possible biais de sélection cellulaire ou d'un mécanisme de correction de la trisomie lors de la culture cellulaire.

## CYTOGÉNÉTIQUE ET REMANIEMENTS CHROMOSOMIQUES

**#3077 : Remaniement complexe du chromosome X de novo impliquant RAB39B, responsable d'une déficience intellectuelle syndromique**

### Auteurs :

Gwenaël Le Guyader (1), Brigitte Gilbert-Dussardier (1), Radu Harbuz (2), Valérie CHARRAUD (2), Alain Kitzis (2), Frédéric Bilan (2)

1. Service de génétique clinique, CHU de Poitiers, Poitiers, France
2. Laboratoire de Génétique, CHU de Poitiers, Poitiers, France

**Mots clefs :** ACPA, CNV complexe, RAB39B, Chromosome X, Déficience intellectuelle, Autisme, Macrocéphalie

### Résumé :

Nous rapportons le cas d'un patient de 28 ans présentant l'association d'une déficience intellectuelle sévère, de troubles du comportement de la lignée autistique en association avec une épilepsie, une macrocéphalie et des anomalies des extrémités. L'ACPA a mis en évidence la présence de 2 CNV survenus *de novo* résultant vraisemblablement d'un réarrangement complexe : 1) une petite délétion de 44 kpb en Xq28 emportant les exons 2 à 6 de *CLIC2* et une partie de *RAB39B*, dont l'haploinsuffisance est responsable d'une déficience intellectuelle, d'une macrocéphalie et d'une maladie de parkinson; 2) une triplication en amont de la même région Xq28 (455 kpb) contenant 3 gènes et 1 miRNA. Ce cas clinique vient appuyer les observations rapportées dans 1 article récent impliquant le gène *RAB39B* et lui donnant un rôle complexe dans le développement synaptique et sa maintenance, ainsi que la régulation de l'a-synucléine l'impliquant dans la pathogénèse de la maladie de Parkinson.

## CYTOGÉNÉTIQUE ET REMANIEMENTS CHROMOSOMIQUES

### #3122 : Anneau du chromosome 4 : a propos de 3 cas

#### Auteurs :

Céline POIRSIER (1), Céline POIRSIER (1), Christophe CARREAU (1), Pierre-François SOUCHON (2), Anne-Sophie MUSIAL (3), Christèle MANGEONJEAN (1), Pauline FEUCHER (1), Nadine GRUSON (1), Florence ALNET (1), Anita RIOT (1), Sandrine CLOMES (1), Marianne GUIRAO (1), Dominique GAILLARD (1), Anne-Sophie LEBRE (1), Emilie LANDAIS (1), Martine DOCO FENZY (1)

1. Service de Génétique, CHU de Reims, REIMS, France
2. Pédiatrie, CHU de Reims, REIMS, France
3. Pédiatrie, CHU de Reims, Reims, France

**Mots clefs :** anneau, chromosome 4, Wolf-Hirschhorn, ACPA

#### Résumé :

Les chromosomes en anneau sont des anomalies cytogénétiques de structure rares. La formation de cette structure en anneau est liée à la circularisation d'un chromosome ayant une cassure des 2 extrémités, entraînant une délétion des segments terminaux. Les anneaux sont instables lors des divisions cellulaires, entraînant fréquemment une mosaïque dynamique, avec mécanismes de délétions-duplications. Les anneaux peuvent concerner l'ensemble des chromosomes. Dans la littérature, une trentaine de patients avec un anneau du chromosome 4 ont été décrits. Les manifestations cliniques les plus fréquentes sont un retard staturo-pondéral, une microcéphalie et un retard psycho-moteur. Certains avaient une fente labio-palatine, une malformation cardiaque. Lorsque l'anneau est associé à une délétion 4p incluant au moins une partie des gènes *LETM1* et *WHSC1*, les patients ont un phénotype de syndrome de Wolf-Hirschhorn, avec une dysmorphie faciale évocatrice.

Nous rapportons 3 patients porteurs d'un chromosome 4 en anneau.

- Le patient 1 est une jeune fille référée à l'âge de 9 ans en raison d'une cassure de la courbe staturo-pondérale associée à des difficultés d'apprentissage. Elle avait été opérée d'une malposition anale en période néonatale. A 15,5 ans, après un traitement par hormone de croissance, elle mesure 158 cm et pèse 64 kg. Elle présente un anneau du chromosome 4 en mosaïque. Le caryotype est le suivant : 46,XX[18]/47,XX,+r(4)[12].ish r(4)(D4S596-,D4S174-,D4S3360-,4qter-) dn. L'ACPA est en cours.

- Le patient 2 est un garçon référé à l'âge de 3 ans en raison d'un RCIU sans rattrapage post-natal, associé à une cryptorchidie bilatérale et une dysmorphie faciale, avec un développement correct. Le caryotype a mis en évidence une mosaïque complexe, le clone majoritaire comprenant un anneau du chromosome 4 et un dérivé d'une translocation (4;17) : 45,XY,-4,-17,+der(17)t(4;17)(q10;q25)[9]/46,XY,-4,+r(4),-17,+der(17)t(4;17)(q10;q25)[115]/47,XY,-4,+r(4) x2, -17,+ der(17)t(4;17)(q10;q25)[5]. L'ACPA n'a pas identifié de délétion des extrémités terminales du chromosome 4 mais des remaniements interstitiels complexes en cours de caractérisation.

- Le patient 3 est un garçon référé à 21 mois en raison d'un RCIU avec un retard de croissance post-natal à -4DS associé à une microcéphalie et une dysmorphie faciale. Le caryotype a mis en évidence un anneau sur toutes les mitoses étudiées : 46,XY,r(4)(:p16->q35:)[20]. ish r(4)(D4S3360-,4pter-,wcp4+)[20]dn. L'ACPA a mis en évidence une délétion 4pter n'emportant pas la région impliquée dans le syndrome de Wolf-Hirschhorn et une délétion 4qter : arr[hg19] 4p16.3(71,552-449,774)x1,4q35.1q35.2(186,343,655-190,916,678)x1.

Nous discuterons de l'implication de l'anneau et des CNV dépistés par ACPA dans le phénotype des patients, en les comparant à ceux décrits dans la littérature.

## CYTOGÉNÉTIQUE ET REMANIEMENTS CHROMOSOMIQUES

### #3154 : Analyse chromosomique et moléculaire de l'inversion péricentrique commune du chromosome Y : à propos de six cas

#### Auteurs :

Houda HAMDI-ROZE (1), Saloua TOUJANI (1), Josette LUCAS (1), Vincent JAUFFRET (1), Martine BLAYAU (2), Philippe LOGET (3), Linda AKLOUL (4), Laurent PASQUIER (4), Sylvie ODENT (4), Marc-Antoine BELAUD-ROTUREAU (1), Sylvie JAILLARD (1)

1. Laboratoire de Cytogénétique et Biologie Cellulaire, CHU de Rennes, Rennes, France
2. Laboratoire de Génétique Moléculaire et Génomique, CHU de Rennes, Rennes, France
3. Laboratoire d'Anatomie et Cytologie Pathologiques, CHU de Rennes, Rennes, France
4. Service de Génétique Clinique, CHU de Rennes, Rennes, France

**Mots clefs :** inversion de l'Y, infertilité, prénatal, AZF

#### Résumé :

Le chromosome Y est constitué de deux régions pseudoautosomiques : PAR1 à l'extrémité de son bras court et PAR2 à l'extrémité de son bras long, d'une région hétérochromatique sur le bras long (Yq12) et d'une région spécifique euchromatique contenant des gènes intervenant dans la mise en place des fonctions masculines. L'euchromatine du bras long comporte les trois régions AZF (pour *AZooSpermia Factor a, b et c*) qui contiennent plusieurs gènes régulateurs de la spermatogénèse. Les principales altérations génétiques associées à des troubles de la fertilité, à type d'azoospermie ou d'oligospermie, sont les délétions de ces régions AZF, des mutations ponctuelles dans certains de leurs gènes ou des remaniements du chromosome Y impliquant ces régions. Parmi ces remaniements, l'inversion péricentrique commune est retrouvée chez 0,6 à 1 pour 1000 hommes dans la population générale. Elle est considérée le plus souvent comme un polymorphisme et n'est généralement pas associée à des troubles de la reproduction. Des cas familiaux avec transmission d'inversion ont d'ailleurs été décrits. Néanmoins, de rares cas de baisse de la fertilité ont été rapportés chez des patients présentant des inversions du chromosome Y, notamment lorsque les points de cassure se situent dans des régions régulatrices de la spermatogénèse.

Nous rapportons six cas de patients non apparentés présentant des troubles de la reproduction (2/6), un autisme à type de syndrome d'Asperger (1/6), des malformations fœtales détectées *in utero* (2/6), et une mort fœtale *in utero* pour chorioamniotite (1/6). Une inversion péricentrique du chromosome Y a été identifiée sur le caryotype en bandes RHG (résolution de 400-500 bandes) chez chaque patient. Une ACPA (analyse chromosomique sur puce à ADN) n'a montré aucun gain ou perte de matériel sur les chromosomes Y de ces patients. Néanmoins, pour trois d'entre eux, une étude par hybridation *in situ* en fluorescence (FISH) a permis de situer le point de cassure dans l'une des régions AZF.

L'association d'une inversion sur le chromosome Y et de malformations fœtales a été peu décrite et semble fortuite. Cependant, cette étude de cas laisse à penser que les inversions du chromosome Y peuvent être impliquées dans des troubles de la reproduction, notamment lorsqu'elles impliquent la réorganisation des régions AZF, régions nécessaires à la mise en place d'une spermatogénèse efficace. L'investigation de ces inversions constitue un enjeu important aujourd'hui en France, où 10 à 15% des couples en âge de procréer sont concernés par l'infertilité.

## CYTOGÉNÉTIQUE ET REMANIEMENTS CHROMOSOMIQUES

### #3178 : Impact d'un chromosome surnuméraire sur l'architecture nucléaire et le niveau d'expression du génome

#### Auteurs :

Syrine Hizem (1), Bérénice Hervé (2), Jean-Maurice Petit (3), Florent Dumont (4), Thomas Guilbert (5), Aurélie Coussement (1), Jean-Michel Dupont (1)

1. , , Paris, France

2. Département de Cytogénétique, Obstétrique et Gynécologie, CHI Poissy St Germain, Poissy, Paris, France

3. Service Commun de Microscopie, Faculté des Sciences Fondamentales et Biomédicales des Saints Pères, Paris, France

4. Plate-forme de séquençage et génomique, Institut Cochin, Paris, France

5. Plate-forme d'imagerie cellulaire, , Paris, France

**Mots clefs :** FISH-3D, territoire chromosomique, Trisomie 21, DSCR, transcriptome

#### Résumé :

A l'ère du séquençage complet du génome, il est devenu évident que le simple agencement des bases nucléotidiques dans la séquence d'ADN ne suffit pas à lui seul à expliquer les modifications d'expression des gènes entre les tissus et au cours du développement, laissant une place croissante au rôle des facteurs épigénétiques. L'organisation de la chromatine, et la distribution des chromosomes en territoires bien individualisés au sein du noyau, jouent notamment un rôle important dans l'expression du génome.

Dans ce travail, nous avons tenté d'étudier l'impact de la présence d'un chromosome surnuméraire sur l'organisation architecturale du noyau et le niveau d'expression du génome, à travers un modèle d'aneuploïdie : celui de la trisomie 21 (T21).

Nous avons étudié dans un premier temps en FISH-3D (hybridation in situ fluorescente tridimensionnelle), dans les noyaux interphasiques de cellules issues de culture de liquide amniotique prélevées chez 5 fœtus présentant une trisomie 21, la position des territoires chromosomiques (TCs) du chromosome 21, en comparaison aux noyaux de fœtus euploïdies. Nous nous sommes également intéressés à la position au sein du TC d'une séquence localisée en 21q22, au niveau de la région critique du syndrome de Down (DSCR).

Dans un second temps, nous avons étudié les modifications d'expression du génome dans le même type de prélèvements issus de 10 fœtus porteurs d'une T21, en comparaison à 9 fœtus euploïdes.

Les résultats de la FISH-3D ont montré que la position radiale moyenne des TCs du chromosome 21, comme celle de la région 21q22, n'était pas altérée par la présence d'un chromosome 21 surnuméraire. En revanche, nous avons constaté dans les noyaux trisomiques une disposition particulière des TCs: 2 TCs sont systématiquement situés à proximité l'un de l'autre, alors que la troisième copie est plus à distance.

Les modifications d'expression en cas de T21 portaient sur tout le génome, avec une prédilection pour le chromosome 21. Certains gènes significativement dérégulés impliqués dans l'organisation de la chromatine pourraient être à l'origine des modifications architecturales observées en FISH.

Les données sur la position radiale du chromosome 21 dans les cellules de liquide amniotique montrent un schéma différent de celui observé dans les cellules de villosités chorales étudiées dans un travail précédent, suggérant une relation entre la position du TC et le type cellulaire. Quant à la position relative des TCs homologues en trois copies, il semblerait que leur distribution particulière retrouvée dans d'autres types cellulaires, soit une caractéristique du noyau trisomique.

A la lumière de ces résultats préliminaires, nous projetons de continuer l'étude de la position des TCs de chromosomes diploïdes dans les noyaux de T21, et d'affiner la corrélation à l'échelle des gènes entre leur position dans le noyau et leur niveau d'expression.

## CYTOGÉNÉTIQUE ET REMANIEMENTS CHROMOSOMIQUES

#3226 : Chromosome 21 en anneau: A propos d'un nouveau cas et revue de littérature

### Auteurs :

Wem AYED (1), Manel BCHIR (2), Wajih HAMMAMI (3), Hend BEN NEJI (2), Meriem BEN KHALIFA (4), Hylmi GUERMANI (4), Balkisse MEDDEB (5)

1. Labortatoire d'Histologie et de Cytogénétique , Institut Pasteur de Tunis , Tunis, Tunisie
2. Service d'Hématologie clinique , Hopital Aziza Othemana , Tunis, Tunisie
3. Labortatoire d'Histologie et de Cytogénétique , Institut Pasteur de Tunis, Tunis, France
4. Labortatoire d'Histologie et de Cytogénétique , Institut Pasteur de Tunis, Tunis, Tunisie
5. Labortatoire d'Histologie et de Cytogénétique , Hopital Aziza Othemana , Tunis, Tunisie

**Mots clefs :** Dysmorphie faciale, Retard mental, leucémie, caryotype, chromosome en anneau

### Résumé :

Les anneaux chromosomiques sont des anomalies de structure rares, qui impliquent le plus souvent le chromosome X et les chromosomes acrocentriques. La mécanique chromosomique est complexe, l'anneau étant généré par deux cassures suivies d'une fusion avec perte des fragments distaux. Le phénotype clinique varie en fonction de l'importance de la délétion consécutive à la perte des fragments distaux. Le chromosome 21 en anneau est une anomalie chromosomique rare. Le patient atteint peut être asymptomatique ou présenter des signes cliniques tels que : le retard mental, la dysmorphie faciale, les malformations squelettiques et viscérales.

Nous rapportons dans ce travail le cas d'une jeune fille âgée de 21 ans et suivie pour une leucémie aigue myéloïde (LAM). Elle présente un facies triangulaire, une petite taille et un léger retard mental. La biopsie ostéo-médullaire a objectivé une myélofibrose. Le caryotype médullaire n'a pas pu être réalisé par absence de pousse cellulaire à deux reprises. L'évolution a été marquée par une rechute après un traitement de chimiothérapie d'induction. Devant cette évolution et les signes physiques, le diagnostic de l'Anémie de Fanconi (AF) a été évoqué et un test d'instabilité chromosomique à la mitomycine C a été ainsi demandé. Le faible pourcentage des mitoses instables (24%) a infirmé le diagnostic d'AF. Cependant, le caryotype conventionnel constitutionnel en bande RHG a révélé la présence d'un chromosome 21 en anneau à l'état homogène.

Nous discuterons à travers cette observation et la revue de littérature les corrélations entre l'anomalie chromosomique identifiée et les signes cliniques.

## CYTOGÉNÉTIQUE ET REMANIEMENTS CHROMOSOMIQUES

#3258 : Apport diagnostique de l'utilisation des puces SNP dans l'étude chromosomique des morts fœtales.

### Auteurs :

Laure Raymond (1), Jean-Luc Dherbey (1), Isabelle REBEYRAT-PICHON (1), Said EL-MOUATASSIM (1), Gregory EGEEA (1)

1. Département de génétique, Biomnis, Lyon, France

**Mots clefs** : puce à ADN, caryotype, mort foetale

### Résumé :

La mort fœtale (MF) survient dans environ 15% des grossesses cliniquement identifiées. Des anomalies cytogénétiques sont présentes dans la moitié des fausses couches spontanées (MF < 22 semaines d'aménorrhée (SA)) et dans 6 à 13% des cas de mortinatalité (MF > 22 SA). Le caryotype conventionnel, technique traditionnellement utilisée pour mettre en évidence ces anomalies, est soumis à un fort taux d'échecs. L'utilisation des puces à ADN présenterait une alternative avantageuse pour augmenter le taux et la rapidité du rendu des résultats. Nous avons souhaité évaluer l'impact diagnostique de ce choix.

53 morts fœtales ont été analysées par caryotype conventionnel en 2012, 138 ont été analysées par puce Illumina Human CytoSNP-12 en 2013 et 2014. Nous avons comparé la répartition des résultats rendus.

Le taux d'échec s'élève à 42% pour le caryotype contre 7% pour les puces. Dans le premier cas la cause prépondérante était l'échec de culture cellulaire, dans le second la contamination par des cellules maternelles, visible grâce aux données de génotypage, et susceptible de masquer les anomalies. Ces contaminations concernaient uniquement des prélèvements de placenta.

Le sex ratio féminin:masculin pour les résultats normaux est de 3:1 pour le caryotype et 4:3 pour les puces SNP, ce qui suggère la présence d'une contamination maternelle générant de potentiels faux négatifs de type 46,XX.

Des anomalies chromosomiques ont été détectées pour 19% des caryotypes réalisés, et pour 26% des puces SNP. La quasi-totalité des anomalies concerne des pertes fœtales survenues avant 22 SA. Les triploïdies représentent respectivement 20 et 15% des anomalies, les aneusomies 70 et 66%. Près de 20% des anomalies détectées en puce SNP sont inférieures à 5 mégabases.

L'utilisation des puces à SNP améliore clairement la rapidité et le taux des diagnostics, d'une part car les échecs sont nettement moins nombreux (notamment car le tissu non vivant demeure exploitable en puce), d'autre part car la détection d'anomalies de moins de 5 mégabases est rendue possible par la résolution plus fine des puces. Un avantage supplémentaire réside dans la présence des données de génotypage, indispensable dans l'étude des morts fœtales puisqu'elle permet de visualiser les triploïdies, contrairement aux puces CGH (hybridation génomique comparative), et les contaminations maternelles partielles. Si le sex ratio des résultats normaux reste encore légèrement dévié vers les génotypes féminins, ceci pourrait être corrigé par le prélèvement de tissu fœtal non placentaire, et par le prélèvement parallèle de sang maternel pour la détection d'une éventuelle contamination.

## CYTOGÉNÉTIQUE ET REMANIEMENTS CHROMOSOMIQUES

### #3270 : Caractérisation des réarrangements chromosomiques complexes à l'ère du séquençage de nouvelle génération

#### Auteurs :

Vincent Gatinois (1), Franck Pellestor (1), Geneviève Lefort (1), Anouck Schneider (1), Christine Coubes (2), David Genevieve (2), Pierre Sarda (2), Wigard Kloosterman (3), Jacques Puechberty (2)

1. Laboratoire de Génétique Chromosomique, Hôpital A. de Villeneuve - CHRU de Montpellier, Montpellier, France
2. Service de Génétique Médicale, Hôpital A. de Villeneuve - CHRU de Montpellier, Montpellier, France
3. Department of Biomedical Genetics, University Medical Center Utrecht, Utrecht, Pays-Bas

**Mots clefs :** réarrangement chromosomique complexe, recombinaison méiotique, séquençage nouvelle génération, whole genome sequencing, conseil génétique

#### Résumé :

On définit les réarrangements chromosomiques complexes (RCC) par la présence d'au moins 3 points de cassure chromosomique. Ils peuvent associer translocations, inversions, délétions et/ou duplications. Le niveau de complexité des RCC peut être très élevé et provoquer une instabilité de la méiose engendrant des déséquilibres chromosomiques majeurs dans les gamètes. Ainsi, le conseil génétique est particulièrement difficile pour les porteurs de RCC équilibrés.

Nous présentons 2 familles avec des antécédents de fausses-couches à répétition. Pour celles-ci, le caryotype standard a montré la présence de RCC dont le degré de complexité a varié à travers les générations. Par la technologie du *whole genome sequencing* (séquençage pangénomique) nous avons pu déterminer le nombre réel de point de cassure ainsi que la position de chacun d'eux, à l'échelle ultime du nucléotide.

Pour la première famille, la découverte d'un syndrome polymalformatif à l'échographie a indiqué un diagnostic prénatal. Le caryotype fœtal a montré un RCC déséquilibré. L'enquête familiale a mis en évidence un réarrangement encore plus complexe mais apparemment équilibré chez la mère.

Pour la seconde famille, une translocation réciproque est connue et transmise sur plusieurs générations. Pour une des filles de cette famille, le réarrangement est plus complexe et implique un troisième chromosome. Les analyses moléculaires ont permis de déterminer la nature réelle de ce RCC.

Pour ces deux familles, une véritable reconstruction du réarrangement initial est survenue pendant la recombinaison méiotique, donnant naissance à un RCC plus simple ou plus complexe.

La combinaison du séquençage de nouvelle génération aux autres approches plus traditionnelles telles que le caryotype et la FISH ont mis en évidence la complexité des réarrangements observés. En comprenant mieux l'origine des RCC, nous avons pu améliorer la qualité du conseil génétique.

**CYTOGÉNÉTIQUE ET REMANIEMENTS  
CHROMOSOMIQUES**

**#3301 : Délétions de novo du gène AGAP1 et autisme**

**Auteurs :**

Mathilde Pacault (1), Bertrand Isidor (1), Marie Vincent (1), Olivier Pichon (1), Cédric Le Caignec (1)

1. Génétique Médicale, CHU Nantes, Nantes, France

**Mots clefs :** autisme, AGAP1, CGH array, remaniements chromosomiques

**Résumé :**

Autism spectrum disorders are complex neurodevelopmental syndromes, of characterized with phenotypic and genetic heterogeneity. Their increasing frequency may be attributable to improved strategies for earlier diagnosis. Further identification of causal genes may help in better understanding the underlying mechanisms of the disorder, thus improving the patients' management.

Here, using oligoarray-based comparative genomic hybridization (array CGH), we identified a *de novo* deletion at 2q37.2 locus spanning 1 Mb and encompassing only *AGAP1* and *SH3BP4*, in a boy with autism and intellectual deficiency (ID). This is, to our knowledge, the second report of deletions involving *AGAP1* associated with autism and ID.

## CYTOGÉNÉTIQUE ET REMANIEMENTS CHROMOSOMIQUES

### #3302 : Microduplication récurrente Xq25: Variant bénin ou pathogène? Présentation de 11 cas issus d'une cohorte française

#### Auteurs :

magali Gorce (1), agnes Guichet (1), dominique bonneau (1), estelle colin (1)

1. service de genetique, hopital CHU, angers, France

**Mots clefs :** duplication Xq25 STAG2 XIAP

#### Résumé :

La CGH array (Array Comparative Genomic Hybridization), est devenu l'examen de première intention réalisé pour le diagnostic des patients atteints de déficience intellectuelle, et a permis de décrire de nombreux nouveaux syndromes microdélétionnels et microduplicationnels.

Cependant, il est parfois difficile de déterminer si les CNVs (Copy Number Variations) sont des variants pathogènes ou bénins car ils sont mal répertoriés dans les bases de données, leur fréquence dans la population générale est inconnue et, la plupart du temps, les données cliniques associées manquent.

La microduplication Xq25 a tout d'abord été décrite par Bonnet et al. (2009) et Philippe et al. (2012), ils rapportaient un cas familial et deux cas sporadiques respectivement. Ces auteurs concluaient que le principal gène de cette duplication était GRIA3.

Plus récemment, deux publications, de Di Benedetto et al. (2014) avec 2 familles et Yingyun et al. (2014) un cas sporadique, ont montré que la région minimale critique impliquait les locus XIAP et STAG2. Et enfin, la dernière publication en date de Leroy et al (2015) à partir d'une famille et d'un cas sporadique (tous originaire de la Réunion) montre une région de chevauchement qui n'inclut que le gène STAG2.

Nous rapportons ici 11 patients de 11 familles indépendantes porteurs d'une duplication Xq25, diagnostiqués par le réseau ACPA (Analyse Chromosomique sur Puce a ADN). Cette cohorte comprend 9 garçons et 2 filles et 3 duplications sont héritées de la mère et 8 sont de novo. Les onze duplications ont une taille comprise entre 180 et 965kb. Toutes ces duplications sont de petites tailles par rapport à celles rapportées dans la littérature et comprennent les locus STAG2 et/ou XIAP. Une seule duplication implique GRIA3.

Nous n'observons pas de région minimale critique partagée par toutes ces duplications. Dix individus présentent une déficience intellectuelle modérée à sévère mais le onzième est normalement intelligent. De plus, ces 11 patients ne partagent pas de traits dysmorphiques communs.

En conclusion, la cohorte française de 11 individus de familles différentes représente à ce jour la plus grande série rapportée de duplication Xq25. Cependant la cartographie de cette région Xq25 et les caractéristiques cliniques ne permettent pas de conclure que la microduplication Xq25 a une pathogénicité avec une pénétrance complète.

#3303 : Délétions intragéniques de NBEA et Déficience Intellectuelle non syndromique

**Auteurs :**

Mathilde Pacault (1), Bertrand Isidor (1), Cédric Le Caignec (1), Olivier Pichon (1), Marie Vincent (1), Shelagh Joss (2)

1. Génétique Médicale, CHU Nantes, Nantes, France
2. West of Scotland Clinical Genetics Service, Southern General Hospital, Glasgow, Royaume Uni

**Mots clefs :** NBEA, déficience intellectuelle, CGH array, autisme

**Résumé :**

The neurobeachingene (*NBEA*) maps to the 13q13 locus and encodes a protein involved in the formation and functioning of synapses. Deletions or disruptions of this gene by balanced translocation have been described in association with autism. Autism spectrum disorders are thought to be caused by abnormalities of the synaptic activities, in which *NBEA* haploinsufficiency would contribute. Here, using oligoarray-based comparative genomic hybridization (array CGH), we identified a *de novo* deletion encompassing the *NBEA* gene in two children presenting with non-syndromic intellectual deficiency, without autistic features.

This report suggests that disruption in the *NBEA* gene causes non syndromic intellectual deficiency

## CYTOGÉNÉTIQUE ET REMANIEMENTS CHROMOSOMIQUES

### #3315 : Diagnostic prénatal d'un anneau du chromosome 14 en mosaïque avec une monosomie 14 : anomalies échographiques associées

#### Auteurs :

Marie Rossato (1), Arnaud Molin (1), Matthieu Decamp (2), Nicolas Gruchy (2)

1. service de génétique, CHU Caen, caen, France
2. service de génétique, CHU Caen, Caen, France

**Mots clefs :** anneau, mosaïque, monosomie, prénatal

#### Résumé :

Les anneaux chromosomiques sont des anomalies de structure instables sur le plan mitotique, comportant deux points de cassure. Les anneaux autosomiques sont des remaniements déséquilibrés à l'origine d'un phénotype anormal, souvent perdus au cours des divisions cellulaires et donc présents en mosaïque avec une population de cellules monosomiques.

Nous rapportons le cas d'un anneau du chromosome 14 en mosaïque avec une monosomie 14 diagnostiqué en prénatal lors de la 2<sup>ème</sup> grossesse d'un couple non apparenté. L'indication du caryotype sur liquide amniotique était la présence de fémurs courts, d'une hyperéchogénicité intestinale et d'une cardiomégalie avec insuffisance tricuspide à l'échographie du 2<sup>ème</sup> trimestre.

Il s'agissait d'un remaniement survenu *de novo*, les caryotypes parentaux étant sans particularité.

La proportion de l'anneau était de 3/28 (10%) en cytogénétique conventionnelle et de 10% en FISH avec des sondes télomériques du 14 et locus spécifique IGH (14q32). La formule chromosomique était donc : mos 46,XX,r(14)(p11.2q32.33)/45,XX,-14.

Une interruption médicale de la grossesse a été effectuée au terme de 29 SA. L'examen foetopathologique a permis de mettre en évidence une dysmorphie faciale comportant un front haut, un élargissement de la racine du nez, un profil anormal avec front fuyant et léger rétrognathisme, ainsi qu'une cardiomégalie asymétrique prédominante au niveau du ventricule droit. L'examen du chorion révélait une proportion de l'anneau du 14 de 3/18 (16%) qui nous permettra peut-être de préciser les points de cassure par CGH-array (analyse en cours).

Il s'agit du 4<sup>ème</sup> cas d'anneau du 14 rapporté en prénatal, mais le degré de mosaïcisme était toujours beaucoup plus important (au moins 30%). Nous discutons l'importance de la monosomie du 14 associée chez un fœtus viable, étant donné l'absence de monosomie autosomique possible à la naissance, et son expression phénotypique. Le point de cassure sur le bras long du 14 est distal par rapport à ceux de la littérature (14q32.32) permettant peut être d'expliquer les différences phénotypiques (absence de fémurs courts ou d'hyperéchogénicité intestinale rapportés jusque-là).

## CYTOGÉNÉTIQUE ET REMANIEMENTS CHROMOSOMIQUES

**#3320 : Les isodisomies uniparentales en mosaïque pourraient être impliquées dans les pathologies neurodéveloppementales, à propos de 4 cas.**

### Auteurs :

Dahleb Wafa (1), Jonathan Levy (2), Laurence Perrin (3), Céline Dupont (4), Camille Leroy (4), Séverine Drunat (5), Berethée Diarra (6), Imane Baatout (6), Valérie Vantalón (7), Agnes Guet (8), Eva Pipiras (9), Brigitte Benzacken (10), Richard Delorme (7), Alain Verloes (3), Anne-Claude Tabet (11)

1. UF de cytogénétique- Département de Génétique, Hôpital Robert Debré - Paris - France, Paris, France
2. UF de Cytogénétique-Département de Génétique, Hôpital Robert Debré (AP-HP)- Paris - France, Paris, France
3. UF de génétique clinique- Département de Génétique, , Hôpital Robert Debré (AP-HP) - Paris - France, Paris, France
4. UF de Cytogénétique-Département de Génétique, Hôpital Robert Debré (AP-HP) - Paris - France, Paris, France
5. UF de Génétique Moléculaire-Département de Génétique, Hôpital Robert Debré (AP-HP) - Paris - France, Paris, France
6. UF de Cytogénétique-Département de Génétique, Hôpital Robert Debré (AP-HP) - Paris - France, Paris, France
7. Service de psychopathologie de l'enfant et de l'adolescent, Hôpital Robert Debré (AP-HP) - Paris - France, Paris, France
8. service de neurologie pédiatrique, Hôpital Louis Mourier (AP-HP), Colombes, France, Colombes, France
9. Service d'histologie-Embryologie et Cytogénétique, Biologie de la reproduction, , Hôpital Jean Verdier (AP-HP), Bondy, France
10. Service d'histologie-Embryologie et Cytogénétique, Biologie de la reproduction, UFR-SMBH, Paris XIII, France, Hôpital Jean Verdier (AP-HP), Paris, France
11. UF de cytogénétique- Département de Génétique, Hôpital Robert Debré (AP-HP) - Paris - France, Paris, France

**Mots clefs :** Isodisomie uniparentale, mosaïque, puces à SNP, Autisme, pathologies neurodéveloppementales

### Résumé :

**Les isodisomies uniparentales en mosaïque pourraient être impliquées dans les pathologies neurodéveloppementales, à propos de 4 cas.**

Dahleb W., Levy J., Perrin L., Dupont C., Leroy C., Drunat S., Diarra B., Baatout I., Vantalón V., Guet A., Pipiras E., Benzacken B., Delorme R., Verloes A., Tabet AC.

La prévalence des disomies uniparentales est estimée à 1/3500 naissances. Les isodisomies uniparentales (iDUP) en mosaïque sont beaucoup plus rarement rapportées.

Nous rapportons quatre cas d'iDUP en mosaïque identifiées par ACPA de type SNP chez des patients présentant un phénotype anormal.

Deux des patients ont été adressés pour diagnostic étiologique d'un trouble du spectre autistique (TSA): le patient 1 présentait un TEDNoS associé à un retard psychomoteur global, et le patient 2 présentait un TSA isolé. Les deux autres patients présentaient un retard de développement psychomoteur et un trouble du langage associés à un retard de croissance pré et post natal dans un cas (patient 3) et associé à un phénotype osseux compatible avec une dysostose spondylothoracique dans l'autre cas (patient 4).

Une analyse pangénomique par puce à ADN de type SNP (OmniExpress, Illumina) a été réalisée pour chaque patient, et pour deux d'entre eux chez leurs parents également (patient 1 et 2). Des techniques complémentaires par FISH ont été réalisées chez tous les patients afin d'identifier le mécanisme de survenue des anomalies.

Pour 3 des 4 patients, l'ACPA n'a pas retrouvé de déséquilibre génomique. Dans un cas, l'ACPA a identifié une délétion 16p11.2 d'environ 600kb. Chez tous les patients, le génotypage des puces a permis de mettre en évidence une isodisomie en mosaïque confinée à un chromosome en dehors de tout contexte de consanguinité. Les patients 1 et 3 présentaient une isodisomie complète qui concernait le chromosome 13 (patient 1) ou le chromosome 22 (patient 3). Les patients 2 et 4 présentaient une isodisomie partielle en mosaïque du bras long du chromosome 10 : 10q23q26 (patient 2) et du bras long du chromosome 17 : 17q21q25 (patient 4).

Nous discuterons des mécanismes de survenue de ces anomalies chromosomiques et des limites des techniques utilisées pour les mettre en évidence. Par ailleurs, nous confronterons nos observations aux données de la

littérature et discuterons de l'implication possible des isodisomies en mosaïques dans les TSA et plus généralement dans les pathologies neurodéveloppementales.

Mots clés : isodisomie uniparentale, mosaïque, puces à SNP, Autisme, pathologies neurodéveloppementales

## CYTOGÉNÉTIQUE ET REMANIEMENTS CHROMOSOMIQUES

**#3328 : Chromothripsis, des remaniements complexes aux origines et aux conséquences multiples : à propos de deux cas.**

### Auteurs :

Damien SANLAVILLE (1), Nicolas CHATRON (2), Julia ZILLHARDT (2), Audrey LABALME (2), Pierre-Antoine ROLLAT-FARNIER (2), Fabienne PRIEUR (3), Flavie DIGUET (1), Marianne TILL (2), Renaud TOURAINE (3), Caroline SCHLUTH-BOLARD (1)

1. Laboratoire de Cytogénétique Constitutionnelle, Hospices Civils de Lyon, Equipe TIGER, CRNL, UCBL1, INSERM U1028, CNRS UMR 5292, Lyon, France
2. Laboratoire de Cytogénétique Constitutionnelle, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
3. Service de Génétique Clinique, Chromosomique et Moléculaire, CHU Hôpital Nord, Saint-Etienne, Saint-Etienne, France

**Mots clefs :** chromothripsis, chromoanasythesis, CCR, WGS, NGS

### Résumé :

Chromothripsis, des remaniements complexes aux origines et aux conséquences multiples : à propos de deux cas

N. Chatron<sup>1</sup>, J. Lauer<sup>1</sup>, P.A. Rollat Farnier<sup>1</sup>, A. Labalme<sup>1</sup>, F. Prieur<sup>2</sup>, F. Diguët<sup>1,3</sup>, M. Till<sup>1</sup>, R. Touraine<sup>2</sup>, C. Schluth-Bolard<sup>1,3</sup>, D. Sanlaville<sup>1,3</sup>

Le chromothripsis ou chromoanasythesis correspond à un phénomène de réarrangements massifs du génome. Initialement découvert en pathologie acquise, de très rares cas constitutionnels ont été décrits. Ils résultent de fragmentations multiples d'un chromosome suivies d'une reconstruction aberrante, en une seule fois, du chromosome. Il s'agirait d'un seul événement catastrophique se déroulant au cours de la réplication de l'ADN.

Nous rapportons deux patients porteurs de ce type de remaniement associé à une déficience intellectuelle syndromique. Le premier est un jeune garçon présentant un retard de croissance, une déficience intellectuelle modérée, un retard de langage, une dyspraxie oro-buccale, une ichtyose pilaire, des ongles fins et mous et une dysmorphie faciale. Le caryotype a mis en évidence un chromosome 21 en anneau caractérisé en ACPA (Analyse Chromosomique sur Puce à ADN) avec 3 pertes de 1,2 à 7,4 Mb et 5 gains de 162 kb à 2,8 Mb confirmés en FISH. Pour mieux caractériser ce remaniement, un séquençage génome entier (*whole genome sequencing* WGS) en *paired-end* 2x100pb sur NextSeq500 (Illumina) a été réalisé. Le WGS a confirmé les 8 CNVs identifiés en ACPA, et a permis d'identifier 3 CNVs supplémentaires de petite taille (2 pertes, 1 gain) ainsi que la présence de 3 inversions pour un total de 21 points de cassure. La seconde patiente est une adulte présentant une déficience intellectuelle légère avec un retard de langage et une fente palatine porteuse au caryotype d'une double inversion d'un chromosome 3 (46,XX,inv(3)(p13;p22),inv(3)(p12;q26.3)) sans déséquilibre pathogène en ACPA. Le WGS a révélé un remaniement plus complexe avec 14 points de cassure dont l'un dans le gène *FOXP1*. L'interruption de ce gène permet d'expliquer le phénotype de la patiente.

Alors que dans le premier cas le phénotype du patient est lié à la modification de doses de très nombreux gènes compris dans les CNVs, ce second cas montre l'importance de la caractérisation des points de cassure en cas de remaniement chromosomique équilibré et l'efficacité de notre approche même en cas de remaniements très complexes. Le séquençage Sanger des fragments de jonction permettra de rechercher les mécanismes à l'origine de ces remaniements. Ainsi, les chromothripsis apparaissent comme un groupe de remaniements génomiques extrêmement complexes, aux origines et aux conséquences multiples. Nous prévoyons de reproduire cette stratégie sur d'autres échantillons pour lesquels un chromothripsis est suspecté pour mieux comprendre les mécanismes de survenue, les conséquences et la diversité de ces remaniements. Cette approche anticipe l'installation du WGS comme technique centrale des laboratoires de cytogénétique et génétique moléculaire.

## CYTOGÉNÉTIQUE ET REMANIEMENTS CHROMOSOMIQUES

#3344 : Etude de l'instabilité chromosomique induite par l'exposition professionnelle aux facteurs génotoxiques.

### Auteurs :

Hajer Doukali (1), Ghada Ben Salah (1), Mounira Darouiche (1), Hassen Kamoun (1)

1. , , Sfax, Tunisie

**Mots clefs :** Echange entre chromatides sœurs, Aberrations Chromosomiques, Micronoyaux, Génotoxicité.

### Résumé :

Bien que les techniques de cytogénétique classique aient été révolues par les nouvelles techniques de cytogénétique moléculaire dans le domaine de la génétique constitutionnelle, ces techniques ont gardé toute leur valeur dans l'exploration de la génotoxicité.

En effet, des variantes techniques en cytogénétique classique permettent de détecter différents types de réarrangements chromosomiques induits par une exposition des agents génotoxiques. Dans ce cadre, nous nous sommes intéressés à l'étude de l'instabilité chromosomique induite par le tabagisme et/ou par l'exposition professionnelle aux dérivés pétroliers, aux rayonnements ionisants ou d'autres facteurs génotoxiques.

Nous avons étudié les biomarqueurs de génotoxicité chez des exposés comparés aux témoins.

Les biomarqueurs de génotoxicité testés sur les lymphocytes du sang total périphérique sont : Le test des aberrations chromosomiques (AC), le test des échanges entre chromatides sœurs (ECS) et le test des micronoyaux (MN). Une analyse statistique a été effectuée pour l'ensemble des paramètres analysés.

Au terme de nos résultats, nous avons montré que la fréquence des AC structurales non spécifiques est significativement plus élevée chez les exposés à différents agents génotoxiques comparés aux témoins ( $p < 0,05$ ). Il en est de même pour le test des micronoyaux.

Le taux d'échanges entre chromatides sœurs (ECS) est significativement plus élevée chez les exposés aux dérivés pétroliers comparés aux témoins ( $p < 0,05$ ). Il en est de même pour les tabagiques comparés aux non tabagiques. Mais le taux d'échanges entre chromatides sœurs (ECS) n'est pas significativement différent chez les exposés aux rayonnements ionisants comparés aux témoins ( $p > 0,05$ ).

L'ensemble de nos résultats suggèrent que le test des AC et le test des micronoyaux seraient les biomarqueurs les plus sensibles à tout effet génotoxique (physique ou chimique) alors que le test d'ECS serait plus spécifique de l'effet induit par des agents chimiques.

## CYTOGÉNÉTIQUE ET REMANIEMENTS CHROMOSOMIQUES

**#3346 : Etude cytogénétique du retard de croissance associé à un trouble de la différenciation sexuelle chez un nourrisson**

### Auteurs :

Ekbel Hadj hassine (1), Afef Jalloul (1), Fethi Amri (2), Ali Saad (3), Lamia Boughamoura (1), Soumaya Mougou-Zerelli (1)

1. Laboratoire de Cytogénétique, Génétique Moléculaire et Biologie de la Reproduction Humaines, CHU Farhat Hached, Sousse, Tunisie, Sousse, Tunisie

2. Pédiatrie , Privé , Kairouan, Tunisie

3. Laboratoire de Cytogénétique, Génétique Moléculaire et Biologie de la Reproduction Humaines, CHU Farhat Hached, Sousse, Tunisie, Sousse , Tunisie

**Mots clefs :** Retard de croissance-Trouble de la différenciation sexuelle-Disomie Xp21pter

### Résumé :

Le retard de croissance (RC) est défini par un poids et/ou une taille inférieure à -2 déviations standards (DS). Dans la majorité des cas, le RC est syndromique et variablement associé à des anomalies du périmètre crânien et à des troubles cognitifs. Rarement, un retard de croissance pourrait s'associer à une anomalie génitale.

Nous rapportons ici le cas d'un nourrisson de 7 mois issu d'un mariage consanguin. L'examen clinique a révélé un RC associé à une microcéphalie et un retard psychomoteur. Le caryotype sanguin en bandes R a montré un chromosome dérivé montrant une homologie de structure avec le chromosome Y. La FISH avec la sonde spécifique du gène *SHOX* a objectivé sa présence en deux exemplaires. La sonde spécifique du gène *SRY* a bien montré sa présence sur le chromosome dérivatif de l'Y. Les sondes de peinture spécifiques des chromosomes sexuels a confirmé que le chromosome dérivé du chromosome Y renferme une partie d'un chromosome X avec un gène *XIST* présent en un seul exemplaire sur le chromosome X. Afin de préciser le niveau de cassure nous avons continué l'exploration cytogénétique en utilisant les sondes : **RP11-63907** en **Yp11.3** et **Xp22.3** et **RP11-89117** en **Xp21.2** montrant une disomie Xp21-pter renfermant le gène *DAX1*.

Une IRM pelvienne complémentaire a mis en évidence l'absence d'organes internes de type féminin. Notre « patiente » présente en plus d'un RC, un trouble de la différenciation sexuelle causé probablement par la duplication partielle du chromosome X suite à une translocation mettant en jeu X et Y. La surexpression de *DAX1* inhibe l'action du *SRY* ainsi le développement gonadique male serait perturbé. Cette action sur le gène *SRY* perturbe aussi le fonctionnement de *SOX9* codant pour un facteur de transcription nécessaire à la différenciation des chondrocytes et au développement de l'appareil génital masculin pouvant expliquer le retard de croissance et le désordre de différenciation sexuelle dans ce cas.

## CYTOGÉNÉTIQUE ET REMANIEMENTS CHROMOSOMIQUES

### #3347 : Etude cytogénétique à propos de 3 cas porteurs du syndrome de Miller-Dieker

#### Auteurs :

meriam hadj amor (1), Ali Saad (1), Sarra Dimassi (1), Nejla Soyah (2), Hanene Hannachi (1), Adnene Mlika (2), Lamia Boughamoura (2), Soumaya Mougou-Zerelli (1)

1. Laboratoire de Cytogénétique, Génétique Moléculaire et Biologie de la Reproduction Humaines, CHU Farhat Hached, Sousse, Sousse, Tunisie

2. Service de pédiatrie, CHU Farhat Hached, Sousse, Sousse, Tunisie

**Mots clefs :** Lissencéphalie, Délétion 17p13.3, PFAH1B1 (LIS1), Syndrome de Miller Dieker, FISH, CGH array.

#### Résumé :

Les lissencéphalies constituent un ensemble de malformations du cortex cérébral qui ont en commun une anomalie de l'apparence des circonvolutions du cerveau (qui peuvent apparaître simplifiées : pachygyrie ou complètement absentes : agyrie). Dans la plupart des cas, la délétion du gène *PFAH1B1* (*LIS1*) est responsable du syndrome de Miller Dieker (SMD).

Nous rapportons ici les caractéristiques phénotypiques et les résultats cytogénétiques de trois patients présentant le syndrome de Miller Dieker.

Phénotypiquement, les trois patients ont des caractéristiques en commun incluant une épilepsie, une dysmorphie faciale, une hypotonie et une microcéphalie. Des décès néonataux et des avortements à répétition ont été observés chez la première patiente. Elle est décédée et son frère est également décédé qui est porteur d'une lissencéphalie de type 1.

Sur le plan radiologique, la TDM cérébrale de la première patiente était en faveur d'une lissencéphalie avec l'aspect d'une leucomalacie. Le deuxième patient présente une agyrie postérieure et une pachygyrie antérieure avec dilatation ventriculaire. L'IRM cérébrale de la troisième patiente confirme une agyrie diffuse avec une dilatation ventriculaire.

Aucune anomalie chromosomique n'a été dépistée par le caryotype conventionnel en bandes R. Une délétion 17p13.3 englobant le gène *LIS1* a été mise en évidence dans les 3 cas par FISH. Curieusement la première patiente a hérité la délétion 17p13.3 de sa mère suite à une malségrégation adjacent 1 d'une translocation réciproque (3p26.2 ; 17p13.3). Chez les deux autres patients les délétions sont de novo. La CGH array, chez la première patiente, a permis de déterminer une délétion de 2,9 Mb entre les positions génomiques 48539pb et 2976723pb.

Des études ont montré que dans 20% le syndrome du Miller-Dieker est hérité de l'un des parents et dans 80% il apparaît de novo. Il s'agit d'un syndrome des gènes contigus dont le gène *LIS1* est le plus fréquemment associé. Egalement, la région 17p13.3 contient d'autres gènes à savoir les gènes *CRK* et *YWHAE* qui ont été considérés comme des gènes candidats responsables. Selon la taille de la délétion 17p13.3, le phénotype varie de la lissencéphalie isolée au syndrome de Miller Dieker, donc il est important de compléter notre étude par une étude moléculaire afin d'identifier la région critique minimale et de pointer vers des nouveaux gènes candidats.

## CYTOGÉNÉTIQUE ET REMANIEMENTS CHROMOSOMIQUES

#3362 : Prise en charge des troubles de différenciation sexuelle au CHU Hassan II Fes à propos de 65 observations

### Auteurs :

leila Qebibo (1), laila Bouguenouch (1), oussama kettani (1), Imane Samri (1), khadija belhassan (1), Mohamed Ahakoud (1), Hanane sayel (1), Ihssane el bouchikhi (1), Karim Ouldin (1)

1. , , Fes, Maroc

**Mots clefs :** Différenciation , sexe , Caryotype , FISH , PCR

### Résumé :

Le déterminisme du sexe a lieu dès la fécondation lors de la mise en commun du patrimoine génétique des gamètes mâles ou femelles, constituant le sexe génétique de l'embryon. Le sexe phénotypique est alors le résultat d'une cascade d'événements contrôlés par des facteurs génétiques et hormonaux lors d'un processus anatomophysiologique garantissant le développement du tractus génital et des organes génitaux externes.

La détermination du sexe du bébé, une étape clé à la naissance, est un enjeu crucial qui accompagne l'identité d'un nouveau-né jusqu'à l'âge adulte en conditionnant sa fonction sociale, familiale, et ses possibilités de reproduction.

Cependant, plusieurs anomalies peuvent siéger à chacune des étapes de ce processus, et entraîner ainsi, une discordance entre les organes génitaux externes, qui est la partie initialement visible, internes, et les caractères sexuels secondaires constituant ainsi ce qu'on appelle les troubles de différenciation sexuelle ou DSD (disorders of sex development) qui regroupent un ensemble d'états intersexués de nature et d'intensité variable.

La survenue de ces troubles concerne un à deux individus sur 10.000 nouveaux nés.

Dans ce travail, nous allons montrer la pertinence des techniques de cytogénétique constitutionnelle et de biologie moléculaire dans le diagnostic et la prise en charge des troubles de différenciation sexuelle. Le but étant de permettre à l'équipe multidisciplinaire, chargée de suivi du patient, de prendre la bonne décision et de mettre en place la meilleure stratégie thérapeutique qui permettra au patient et à sa famille de subir le minimum des dégâts et de vivre une vie très naturelle.

Il s'agit d'une étude concrète d'une série diversifiée de patients souffrant de troubles de différenciation sexuelle divers qui se sont présentés à l'unité de génétique médicale et d'oncogénétique du CHU Hassan II de Fès. L'étude va se focaliser, d'une part, sur le côté diagnostique cytogénétique par établissement du caryotype et d'hybridation in situ fluorescente (FISH) afin de préciser la constitution du matériel chromosomique du patient et de déceler la présence de toute anomalie de nombre ou de structure. D'une autre part, on va explorer par la technique d'amplification par polymérisation en chaîne le gène de déterminisme sexuel SRY ainsi que le gène AZF en présence d'indication.

L'objectif global étant de prouver l'intérêt de la biologie moléculaire et de la cytogénétique dans la prise en charge des troubles de différenciation sexuelle et recommander une conduite à tenir pratique.

## CYTOGÉNÉTIQUE ET REMANIEMENTS CHROMOSOMIQUES

**#3390 : Cytogénétique classique et moléculaire de la leucémie myéloïde chronique, expérience du service de génétique médicale et d'oncogénétique du CHU Hassan II de Fès**

### **Auteurs :**

Oussama Kettani (1), khadija Belhassan (1), Mohamed Ahakoud (1), Leila Qebibo (1), Laila Bouguenouch (2), Karim Ouldin (1)

1. Unité de génétique médicale et d'oncogénétique, CHU Hassan II, Fès, Maroc
2. Unité de génétique médicale et d'oncogénétique, CHU Hassan II, Fès, France

**Mots clefs :** Leucémie myéloïde chronique , cytogénétique , biologie moléculaire , Imatinib

### **Résumé :**

La LMC est l'une des hémopathies malignes les plus fréquentes. Elle a connu des avancées thérapeutiques majeures grâce aux techniques de la cytogénétique classique et moléculaire ainsi que celles de la biologie moléculaire. En effet, l'imatinib mésylate a transformé la prise en charge des patients par son efficacité et par sa facilité d'utilisation. Toutefois, le suivi nécessite une prise en charge hématologique dans un service spécialisé, car il importe d'obtenir le plus rapidement possible une réponse moléculaire, en adaptant les doses si nécessaire, ou en détectant au plus vite les cas de résistance. Cette surveillance est la condition d'une prise en charge optimale afin d'améliorer la survie à long terme.

Nous rapportons notre première série comportant 45 patients adressés du service de médecine interne (MI) du CHU Hassan II-Fès et du service d'hématologie de l'hôpital El Ghassani Fès. Toutes les variables épidémiologiques, cliniques, cytologiques et cytogénétiques des patients ont été étudiées

Le but de cet article est la mise à jour de nos connaissances sur la génétique de la leucémie myéloïde chronique, et à travers ces observations nous illustrons le rôle de la cytogénétique dans le diagnostic, le suivi et le pronostic pour une meilleure prise en charge des patients atteints

## CYTOGÉNÉTIQUE ET REMANIEMENTS CHROMOSOMIQUES

#3391 : Contribution des réarrangements IGH/IGK au suivi moléculaire des LAL-B en Tunisie

### Auteurs :

Sawsen BESBES (1), Walid-Sabri HAMADOU (1), Sameh HAFSI (1), Marie Laure BOULLAND (2), Abderrahim KHELIF (3), thierry FEST (2), Zohra SOUA (1)

1. Laboratoire de Biochimie - UR "Biologie moléculaire des leucémies et lymphomes", Faculté de Médecine, Sousse, Tunisie
2. Service d'Hématologie biologique, CHU Pontchaillou, Rennes, France
3. Service d'Hématologie clinique, CHU F.Hached, Sousse, Tunisie

**Mots clefs :** LAL B ; maladie résiduelle ; réarrangements IGH et IGK

### Résumé :

Les réarrangements des loci IGH et IGK des immunoglobulines sont spécifiques d'un lymphocyte B voire d'un clone malin d'origine lymphoïde B. Les leucémies aiguës lymphoblastiques de la lignée B (LAL B) étant des hémopathies malignes caractérisées par une population lymphoïde B immature et monoclonale, ces réarrangements clonaux peuvent être utilisés comme marqueurs de choix du clone leucémique car ils sont les plus stables au cours du temps, aléatoires et uniques dans ce clone. Ils permettent ainsi une meilleure caractérisation des LAL B et le suivi de la maladie résiduelle minimale (MRD) afin de mieux estimer la réponse thérapeutique.

Dans cet essai, nous proposons l'utilisation conjointe des réarrangements des gènes IGH et les délétions IGK-Kde des gènes des immunoglobulines pour le diagnostic et le suivi moléculaire de la maladie résiduelle (MRD) des LAL-B réalisée pour la première fois en Tunisie. Une LAL-BIII d'un adolescent de 15ans diagnostiquée et suivie au service d'Hématologie du CHU Hached de Sousse a fait l'objet de cette étude. Les techniques de PCR multiplexe suivi de GeneScan et RQ-PCR ont été utilisées.

L'étude cytogénétique a révélé un caryotype normal (46+XY). L'analyse de cette LAL-BIII au diagnostic par PCR multiplexe, a permis de mettre en évidence un réarrangement monoclonal IGH (VH7-JH4) ainsi qu'un réarrangement délétionnel clonal IGK-Kde (VK1f/6-Kde). L'utilisation des gènes IGH et IGK-Kde pour le suivi de la MRD par RQ-PCR à la fin de la phase d'induction a contribué à estimer le taux de blastes résiduels  $> 10^{-4}$ . Le taux de la MRD, en association avec d'autres facteurs a permis de mieux stratifier cette LAL B.

Nous montrons ici que l'utilisation conjointe des marqueurs moléculaires IGH, IGK-Kde pourrait être plus informative lors du suivi thérapeutique d'un maximum de leucémies aiguës de l'enfant et de l'adulte en Tunisie.

## CYTOGÉNÉTIQUE ET REMANIEMENTS CHROMOSOMIQUES

#3392 : Délétion du cluster de SCN explorée par les techniques de cytogénétique et séquençage moyen débit

### Auteurs :

Emilie LANDAIS (1), Mélanie JENNESSON-LYVER (2), Jacques MOTTE (2), Audrey LANNOY (3), Rodolphe DARD (3), Nadine GRUSON (3), Anne-Sophie LEBRE (3), Martine DOCO-FENZY (4)

1. Plate-forme Régionale de Biologie Innovante, CHU de Reims, Reims, France
2. American Memorial Hospital, Pôle de pédiatrie, Service de pédiatrie; Centre de référence des épilepsies rares et de la sclérose tubéreuse de Bourneville , CHU de Reims, Reims, France
3. Hôpital Maison Blanche, Pôle de biologie, Secteur de génétique, CHU de Reims, Reims, France
4. Hôpital Maison Blanche, Pôle de biologie, Secteur de génétique, SFR CAP-SANTE,EA 3801, CHU de Reims, Reims, France

**Mots clefs :** SCN1A, ACPA, NGS

### Résumé :

Le syndrome de Dravet est une des formes les plus sévères d'épilepsie de l'enfant d'origine génétique. Il se caractérise généralement par une épilepsie sévère pharmaco-résistante qui débute de façon précoce avant l'âge d'un an par des convulsions fébriles et qui entraîne par la suite notamment des retards de développement, des troubles du langage, du comportement et de la coordination. Dans 70 à 80% des cas, le syndrome est le résultat d'une mutation dans le gène *SCN1A*, codant pour le canal sodique Nav1.1. Cependant, un remaniement chromosomique ou une délétion exonique du gène *SCN1A* peuvent également être retrouvés chez 2 à 4 % des patients. Plus de 90% des altérations génétiques retrouvées sont survenues *de novo*.

Notre étude rapporte la mise en évidence d'une délétion 2q24.3q31.1 de 7,9 Mb emportant le cluster des gènes *SCN* chez une petite fille de 1 an adressée en consultation de génétique pour syndrome de Dravet atypique du fait du retard sévère de développement associé. L'épilepsie a débuté à 12 mois par des crises fébriles convulsives avec un EEG intercritique qui ne montrait pas d'anomalie dans un contexte d'IRM normale. A l'âge de 36 mois, l'évolution de l'épilepsie est favorable. Néanmoins la patiente présente un retard important des acquisitions (retard sévère de langage) et une grande hypotonie (pas de station assise).

La délétion 2q24q31 a été détectée par analyse chromosomique sur puce à ADN (ACPA) et a également été observée par l'analyse copy number d'un séquençage NGS d'un panel à façon de gènes impliqués dans l'épilepsie. L'analyse systématique des parents par hybridation *in situ* a montré chez sa maman la présence d'une insertion de cette région 2q24q31 dans un chromosome 12, ce qui a permis d'informer les apparentés sur les risques accrus de récurrence (cette insertion étant notamment présente chez ses deux autres filles).

Ce cas clinique souligne la diversité actuelle et la complémentarité des techniques de détection (et de confirmation) de déséquilibres cytogénétiques ainsi que l'importance de la cytogénétique conventionnelle pour le conseil génétique.

## CYTOGÉNÉTIQUE ET REMANIEMENTS CHROMOSOMIQUES

**#3407 : A large-sized genomic deletion at the dysf locus deregulates retinoic acid-dependent cyp26b1 expression and causes antley bixler syndrome**

### Auteurs :

Francesca Puppo (1), Marie Chapoton (1), Karine Nguyen (1), Christophe Pecheux (2), Christophe Vial (3), Nicolas Levy (1), Frederique Magdinier (1), Marc Bartoli (1), Nicole Philip (2), Martin Krahn (1)

1. Aix Marseille Université, INSERM GMGF UMR S\_910, , Marseille, France

2. APHM, Laboratoire de Génétique Médicale, Hôpital de la Timone, , Marseille, France

3. Service d'électroneuromyographie et pathologies neuromusculaires, Hôpital neurologique Pierre Wertheimer, , Lyon, France

**Mots clefs :** Retinoic Acid, Transcriptional regulation, CYP26B1, DYSF, Antley Bixler Syndrome, Chromatin rearrangements

### Résumé :

Antley Bixler Syndrome (ABS) constitutes a very rare developmental syndrome characterized by craniosynostosis and radiohumeral synostosis which is genetically determined by mutations in the cytochrome P450 oxidoreductase gene (*POR*), the Fibroblast Growth Factor Receptor 2 gene (*FGFR2*) or the cytochrome P450 gene *CYP26B1*. Interestingly, clinical manifestations together with the genes involved, pinpoint on the retinoic acid (RA) signalization pathway involvement. The *CYP26B1* gene, which maps on minus strand of chromosome 2, is located 444kb downstream of the *DYSF* gene. Syntheny is highly conserved through evolution.

Based on the specific exploration of one patient presenting with combined clinical manifestations of ABS and Miyoshi distal myopathy (MM), we report that activation of *CYP26B1* expression by RA is greatly reduced in lymphoblasts from this patient carrying a large internal deletion at the *DYSF* locus as compared to controls. Preliminary results from chromatin immunoprecipitation (ChIP) in the locus indicate a strong chromatin insulator (bound by CTCF), sensitive to retinoic acid stimulation and with strong conservation across evolution. Thus, this genomic deletion not only affects dysferlin protein function but also *CYP26B1* gene expression explaining the clinical outcomes for this patient. This demonstrate that *DYSF* contains regulatory sequences controlling *CYP26B1* expression that, when deleted, lead to ABS by a long distance position effect. Altogether, these data underline the importance of searching for *DYSF* locus microdeletions in ABS patients without mutations in classically linked genes. Even in high-throughput sequencing era, it is worth to look for rearrangements causing positional effects, in patients showing combined clinical signs.

**#3413 : Faible contribution des CNV intragéniques dans la déficience intellectuelle**

**Auteurs :**

Céline Bonnet (1), Minh Tuan Huynh (1), Marie Damance (1), Laëtitia Lambert (2), Bruno Leheup (2), Philippe Jonveaux (1)

1. Laboratoire de génétique, CHRU de Nancy, Vandoeuvre Les Nancy, France
2. Service de Médecine Infantile et Génétique Clinique, CHRU de Nancy, Vandoeuvre Les Nancy, France

**Mots clefs :** CGH-array, CNV intragéniques, Déficience intellectuelle

**Résumé :**

Afin de déterminer l'impact des remaniements intragéniques dans les gènes de la déficience intellectuelle (DI) dont la taille est inférieure au seuil de détection des formats de CGH-array pangénomiques classiquement utilisés en diagnostic, nous avons mis en place une CGH-array « à façon » permettant de cibler plus de 500 gènes impliqués ou candidats dans la DI à haute résolution.

Nous avons utilisé dans un premier temps un format 1M d'oligonucléotides dont 600k ciblaient les gènes de la DI et 400k permettaient une couverture du reste du génome pour les 45 patients. L'analyse de ces résultats nous a permis de conclure que le nombre d'oligonucléotides pouvait être réduit en passant à un format 8x60K. En effet la densité en sondes était trop importante, ce qui générait du bruit de fond en particulier dans les régions riches en GC. Par ailleurs les CNV identifiés dans les régions non codantes étaient le plus souvent des polymorphismes hérités. Nous avons donc recentré l'analyse sur les exons avec 3 niveaux de densité en oligonucléotides : maximum au niveau des exons, intermédiaire au niveau des introns et beaucoup plus faible pour la couverture du reste du génome (13k). Nous avons également limité le nombre d'oligonucléotides dans les régions décrites comme polymorphes. Un total de 70 patients plus 2 témoins positifs ont été étudiés avec ce nouveau design. Ce changement de format a permis de réduire considérablement le coût de l'analyse par patient et également de permettre une interprétation des résultats beaucoup plus facile et rapide puisque le nombre de CNV mis en évidence est fortement réduit par rapport au format 1M (moyenne de 4 CNV versus 47 CNV par patient) sans perdre en efficacité car les CNV de petite taille des témoins positifs ont bien été identifiés sans ambiguïté.

Au total, sur 115 patients avec DI étudiés, seulement 2 CNV intragéniques délétères ont été mis en évidence soit pour 1,74% des patients. Le premier est une délétion *de novo* des exons 5 à 10 du gène *ZEB2* d'une taille de 28,3 kb et le second une délétion en mosaïque *de novo* des exons 3 à 5 du gène *CASK* d'une taille de 142 kb chez un patient de sexe masculin. Les CNV intragéniques sont donc des événements rares parmi les étiologies génétiques des DI. Les causes les plus fréquentes de DI d'origine génétiques sont les CNV de grandes tailles emportant plusieurs gènes identifiés par CGH-array pangénomique et les mutations ponctuelles détectées par les techniques de séquençage.

Financement : Agence de la biomédecine

## CYTOGÉNÉTIQUE ET REMANIEMENTS CHROMOSOMIQUES

#3431 : Azoospermia and trisomy 18p syndrome: a fortuitous association? A patient report and a review of the literature

### Auteurs :

Guillaume JEDRASZAK (1), Henri COPIN (1), Manuel DEMAILLY (2), Tania DERY (1), Florence JOBIC (3), Alexandra PETIT (1), Bénédicte DEMEER (3), Gilles MORIN (3), Michèle MATHIEU (3), Marlène GALLET (1), Moncef BENKHALIFA (4), Aline RECEVEUR (1)

1. Laboratoire de Cytogénétique, CHU d'Amiens, AMIENS, France
2. Médecine de la Reproduction, CHU d'Amiens, AMIENS, France
3. Génétique Clinique, CHU d'Amiens, AMIENS, France
4. Laboratoire de Biologie de la Reproduction, CHU d'Amiens, AMIENS, France

### Résumé :

Complete, isolated trisomy of the short arm of chromosome 18 is very rare. To date, only 24 cases of trisomy 18p have been reported in the literature, making it difficult to define a potentially associated phenotype. However, the available evidence suggests that few clinical features are shared by these patients: only variable intellectual disability, variable facial dysmorphism and epilepsy are reported in a few patients. Although three inherited cases of trisomy 18p have already been reported, all were of maternal origin.

We report on a patient carrying an isolated complete trisomy 18p translocated to the short arm of chromosome 14 and presenting with facial dysmorphism, mild intellectual disability and non-obstructive azoospermia.

Chromosomal abnormalities are more frequent in infertile men with poor sperm quality than the general population. Both numerical and structural chromosomal aberrations have been already reported within the context of azoospermia. To our knowledge, this is the first patient with trisomy 18p to present a fertility impairment due to totally altered spermatogenesis and azoospermia. Although fertility disorders were not mentioned in the four previous reports of men with trisomy 18p, none of the latter had children. We suggest that azoospermia is a previously uncharacterized feature of trisomy 18p syndrome. We further hypothesize that two genes within the duplicated region could be involved in the azoospermia: *TXNDC2*, which encodes a sperm-specific protein that play a role in the protection of the human spermatozoa against oxidative stress, and *LAMA1*, which encodes one of the three chains that composed the laminin, present in the basement membrane of the seminiferous epithelium.

## CYTOGÉNÉTIQUE ET REMANIEMENTS CHROMOSOMIQUES

**#3459 : Caractérisation moléculaire d'un réarrangement complexe en 18p11 (délétion/duplication inversée) identifié chez un patient dans le cadre d'un bilan d'infertilité**

### Auteurs :

Marie-Céleste Ferreira (1), Emilie Page (1), Maryse Fricker (1), Philippe Lochu (1)

1. Service de Génétique, Laboratoire Gen-Bio, Clermont-Ferrand, France

**Mots clefs :** Chromosome 18, délétion/duplication inversée, CGH array, infertilité masculine

### Résumé :

La délétion 18p fait partie des anomalies régulièrement détectées ; en revanche, les délétions/duplications inversées du chromosome 18 sont très rares et n'ont jamais été associées à un phénotype spécifique.

Nous rapportons le cas d'un patient adressé au laboratoire dans le cadre d'une démarche d'Assistance Médicale à la Procréation. La spermologie a révélé une oligozoospermie et une térazoospermie ; le bilan infectieux était négatif. Le caryotype du patient (bandes G et R après culture des lymphocytes) a révélé un excès de matériel génétique sur le bras p d'un chromosome 18, possiblement une duplication en miroir.

Par peinture chromosomique, nous avons déterminé l'origine de ce matériel et confirmé la duplication du chromosome 18. L'hybridation de sondes sub-télomériques montre une délétion de l'extrémité distale du bras p sur le chromosome remanié.

Afin de confirmer la délétion/duplication, et d'affiner les points de cassures, l'ADN du patient a été analysé par CGH array sur puce SurePrint G3 CGH 8x60K<sup>®</sup> (Agilent Technologies). La CGHa confirme une perte de 1 025 kb en 18p11.32 ainsi qu'un gain de 13 737 kb en 18p11.32-p11.21.

La séquence délétée (18p11.32) concerne une région polymorphe connue (délétions et duplications rapportées dans DGV<sup>®</sup>) ; en revanche la duplication n'est pas décrite dans les bases de données.

Le mécanisme de ce remaniement semble répondre au modèle « *Breakage-fusion-bridge* » décrit pour plusieurs chromosomes dont le chromosome 18 [Moog, et al., 1994 ; Morrissette, et al., 2005]. Chez l'un des patients porteurs du réarrangement, 2 populations cellulaires ont été identifiées :

- 20% des cellules sont *Psu idic*(18) résultant d'une duplication inversée dans l'un des gamètes suite à une non-disjonction méiotique donnant lieu, après la fécondation, à un embryon porteur d'une trisomie 18 partielle ;
- 80% des cellules présentent un *der*(18), résultat d'une cassure adjacente au point de jonction de la duplication lors d'un stade précoce du développement embryonnaire donnant lieu à une trisomie 18p / monosomie 18pter partielles.

Pour ces 2 patients, l'examen, réalisé à 3 ans et environ 6 mois respectivement, ne permet pas d'exclure un effet délétère sur la fertilité, les caryotypes des parents s'étant révélés normaux, confirmant ainsi le caractère *de novo*.

Afin de déterminer si le remaniement de notre patient répond également au modèle « *Breakage-fusion-bridge* », nous allons poursuivre son exploration cytogénétique par sondes FISH locus-spécifiques. Le caryotype des parents nous permettra de déterminer le caractère hérité / *de novo* de ce réarrangement et d'exclure un remaniement parental équilibré. L'ensemble de ces résultats nous permettra de mettre en évidence un éventuel lien causal avec les troubles de la reproduction du patient et d'évaluer le risque génétique pour sa descendance.

## CYTOGÉNÉTIQUE ET REMANIEMENTS CHROMOSOMIQUES

#3469 : Suivi longitudinal sur 50 ans d'une cohorte des patients porteurs d'une délétion 5p

### Auteurs :

Isabelle MAREY (1), Clotilde MIRCHER (1), Aimé RAVEL (2), Anne Sophie REBILLAT (2), Martine CONTE (1), Eric LE GALLOUDEC (1), Cécile Cieuta Walti (1), Laura CRETU (1), Franck STURTZ (1), Silvia SACCO (1), Charles BOUIS (1), Jennifer GALLARD (2), Emilie NONOTTE (2), André MEGARBANE (1), Marie Odile RETHORE (1)

1. , Institut Jérôme Lejeune, Paris, France
2. , Institut Jérôme Lejeune, paris, France

**Mots clefs :** Délétion 5p, évolution naturelle

### Résumé :

La monosomie 5p connu sous le nom de syndrome du cri du Chat résulte d'une délétion chromosomique de taille variable impliquant la partie médiane du bras court du chromosome 5, décrit pour la première fois en 1963 par *Lejeune et al.* Les caractéristiques cliniques comprennent une dysmorphie faciale, un cri monochromatique aigu, un retard de croissance, une déficience intellectuelle de sévérité variable. L'incidence à la naissance est comprise entre 1/15 000 et 1/50 000 enfants nés vivants.

52 patients sont suivis à l'Institut Lejeune, 11 ont un âge supérieur à 30 ans, dont 3 de plus de 50 ans, la plus âgée ayant 56 ans. Ils sont porteurs d'une délétion 5p de taille variable associé parfois à un remaniement plus complexe. Les cariotypes parentaux, quand ils ont été réalisés, retrouve une anomalie dans 8% des cas nécessitant de proposer de le vérifier systématiquement.

Le suivi de ces patients sur le plan médical à plusieurs âges de la vie a permis de mettre en avant les complications les plus fréquemment rencontrées. Le développement psychomoteur est extrêmement variable puisque l'âge d'acquisition de la marche va de 2 ans à une absence d'acquisition de la marche. Pour les patients en âge d'être évalué, 33% n'ont pas de langage et 14% sont capables de faire des phrases construites. Le reflux gastro-oesophagien est quasi constant et souvent compliqué (hémorragie digestive et endobrachyoesophage) nécessitant un dépistage systématique et parfois une prise en charge chirurgicale. Les scolioses ou cyphoscoliose sont constantes mais jamais opérées dans notre série. L'examen clinique révèle une hypotonie axiale et une hypertonie périphérique évoluant vers un syndrome tétrapyramidal sans dégradation motrice à l'âge adulte.

La plupart des patients sont accueillis en IME dans l'enfance avec une autonomie réduite. Pour les 11 patients adultes de plus de 30 ans, 6 vivent en foyer occupationnel, 2 en MAS (Maison d'accueil Spécialisée), 1 n'a pas de structure d'accueil, 1 seule travaille en ESAT (Etablissement et Service d'Aide par le Travail) et vit en foyer d'hébergement. Une des patients âgée de 37 ans vit seule accompagnée par le SAVS (Service d'Accompagnement à la Vie Sociale). Les plaintes majeures dans l'enfance comme les troubles du sommeil et les troubles du comportement persistent à l'âge adulte puisqu'ils présentent quasiment tous des épisodes d'agitation avec des automutilations parfois majeures pris en charge par des traitements psychotropes.

Contrairement à d'autres syndromes microdélétionnels ou anomalies chromosomiques, on n'a pas observé de pathologies neurodégénératives, ni d'excès de cancers, ni de vieillissement prématuré. Les patients porteurs d'une monosomie 5p ont une évolution constante sans aggravation clinique ni neurologique à l'âge adulte et continue de progresser tout au long de leur existence même si les troubles du comportement persistent.

## CYTOGÉNÉTIQUE ET REMANIEMENTS CHROMOSOMIQUES

### #3490 : Présentation atypique du syndrome microdélétionnel 3q27.3

#### Auteurs :

Marlène Gallet (1), Alexandra Petit (2), Tania Dery (1), Florence Jobic (2), Henri Copin (1), Michèle Mathieu-Dramard (2), Aline Receveur (3)

1. Médecine et Biologie de la Reproduction et Cytogénétique, CHU Amiens-Picardie, Amiens, France
2. Génétique Clinique et Oncogénétique, CHU Amiens-Picardie, Amiens, France
3. Histologie - Embryologie - Cytogénétique, Hôpital Antoine-Béclère, Clamart, France

**Mots clefs :** 3q27.3, syndrome microdélétionnel, habitus marfanoïde, syringomyélie, troubles neuropsychiatriques

#### Résumé :

Un nouveau syndrome microdélétionnel a récemment été décrit au locus 3q27.3. Il associe une dysmorphie faciale, un habitus marfanoïde avec scoliose, des troubles neuro-psychiatriques du spectre psychotique et une déficience intellectuelle modérée à sévère. A notre connaissance, seuls 8 patients ont été décrits à ce jour dans la littérature.

Nous rapportons le neuvième cas de ce syndrome : une jeune fille de 7 ans, née de deux parents sains et non apparentés. Elle a une grande soeur, saine également. La grossesse s'est déroulée sans particularités à l'exception de contractions utérines prématurées. A la naissance, elle pesait 2900g et mesurait 47 cm.

Elle présente une dysmorphie modérée avec un hypertélorisme discret, une énoptalmie, une racine du nez large, une columelle saillante, une lèvre supérieure fine et des oreilles de petite taille. Elle n'a pas encore développé d'habitus marfanoïde mais présente une déficience intellectuelle modérée et des troubles du comportement. De plus, elle a développé une rétention vésicale associée à une constipation sévère, nécessitant des sondages urinaires itératifs et des lavements évacuateurs. Une IRM médullaire a révélé une syringomyélie au niveau des vertèbres thoraciques 8 et 9, ne pouvant a priori pas expliquer à elle seule les troubles sphinctériens. Le bilan urodynamique objective une dyssynergie vésico-sphinctérienne. La constipation est actuellement en cours de régression.

Le caryotype constitutionnel ne retrouvait aucune anomalie en bandes R ou G (46,XX). L'analyse par CGH-array a retrouvé une délétion de 8,2 Mb en 3q27.3q29.

Il s'agit du plus jeune cas décrit d'un patient porteur d'une microdélétion 3q27.3. En comparant cette jeune fille avec les patients connus dans la littérature, les troubles sphinctériens qui sont très marqués chez elle ne sont pas retrouvés. Une seule autre anomalie du système nerveux central a déjà été décrite sous la forme d'un méningocèle chez un patient présentant une délétion 3q27 --> 3qter. L'habitus marfanoïde usuellement retrouvé dans ce syndrome n'est pas présente chez notre patiente, possiblement en raison de son jeune âge. Sa dysmorphie confirme les observations précédentes d'une dysmorphie évoluant avec l'âge pour devenir particulièrement reconnaissable chez l'adulte. Ces différents symptômes sont discutés et comparés génotypiquement.

## CYTOGÉNÉTIQUE ET REMANIEMENTS CHROMOSOMIQUES

**#3491 : Inversion duplication avec délétion 8p : à propos d'une série de 24 patients. Corrélation génotype-phénotype et délimitation d'une nouvelle région minimale dupliquée pour l'ACC**

### Auteurs :

Solveig Heide (1), Cyril Mignot (1), Chatron Nicolas (2), Sandra Chantot-Bastarud (3), Marie-France Portnoi (3), Marie-Christine Nouguès (4), Marie-Laure Moutard (4), Thierry Billette de Villemeur (4), Anne Faudet (1), Fabien Lesne (1), Sandra Whalen (3), Céline Richard (5), Chantal Missirian (6), Catherine Vincent-Delorme (7), Odile Boute (7), Joris Andrieux (8), Jean-Michel Dupont (9), Aurélie Coussement (9), Françoise Devillard (10), Charles Coutton (10), Sylvie Taviaux (11), Marie-Josée Pérez (12), Jouannic Jean-Marie (13), Damien Sanlaville (2), Jean-Pierre Siffroi (3), Boris Keren (14)

1. UF de Génétique clinique, Département de Génétique, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, APHP, Paris, France
2. Service de Génétique, Hospices Civils de Lyon, Bron, France
3. Département de Génétique médicale, Hôpital Armand Trousseau, APHP, Paris, France
4. Service de Neurologie Pédiatrique, Hôpital Armand Trousseau, APHP, Paris, France
5. Cytogénétique Médicale, CHU Estaing, Clermont-Ferrand, France
6. Laboratoire de Génétique Chromosomique, CHU Timone enfants, Marseille, France
7. Service de Génétique Clinique, Hôpital Jeanne de Flandre, Lille, France
8. Institut de Génétique Médicale, Hôpital Jeanne de Flandre, Lille, France
9. Service de cytogénétique, Hôpital Cochin, APHP, Paris, France
10. Service de Génétique, CHU de Grenoble, Grenoble, France
11. Laboratoire de Génétique Chromosomique, Département de Génétique Médicale, Hôpital Arnaud de Villeneuve, CHU Montpellier, Montpellier, France
12. Département de Génétique médicale, Hôpital Arnaud de Villeneuve, CHU Montpellier, Montpellier, France
13. Service de Gynécologie Obstétrique, Hôpital Armand Trousseau, APHP, Paris, France
14. UF de Génomique de Développement, Département de Génétique, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, APHP, Paris, France

**Mots clefs :** agénésie du corps calleux, invdupdel8p, déficience intellectuelle

### Résumé :

L'inversion duplication avec délétion 8p ou invdupdel(8p) est un réarrangement chromosomique complexe et rare, caractérisé par une délétion 8p terminale, associée à une duplication interstitielle inversée 8p. Les manifestations cliniques classiquement associées à l'invdupdel(8p) sont une déficience intellectuelle (DI) constante, de sévérité variable, et des malformations congénitales (cardiaques, orthopédiques, cérébrales). Parmi les malformations cérébrales, l'agénésie du corps calleux (ACC) totale ou partielle est fréquente (25%). Sur le plan cytogénétique, les patients rapportés dans la littérature présentent des délétions récurrentes, alors que les duplications sont de tailles variables, amenant certains auteurs à émettre l'hypothèse d'une corrélation entre la sévérité des signes cliniques et la taille de la duplication. Dans une série récente s'intéressant à l'ACC chez les patients avec invdupdel(8p), Sajan et al. (2013) ont proposé une région minimale critique dupliquée de 10 Mb. De plus, une ACC a été rapportée chez des patients avec duplication interstitielle 8p isolée, sans délétion associée.

Afin d'étudier la corrélation génotype-phénotype dans l'ACC chez les patients porteurs d'une invdupdel(8p), nous rapportons les données phénotypiques de 24 individus présentant une invdupdel(8p) étudiée en ACPA. Les données d'imagerie cérébrale étaient disponibles pour 18 patients. Notre cohorte incluait 21 patients âgés de 15 mois à 45 ans et 3 fœtus issus d'interruptions médicales de grossesses pour diagnostic anténatal d'invdupdel(8p) suite à la mise en évidence d'une agénésie du corps calleux à l'échographie anténatale.

Sur le plan cytogénétique, tous les patients de notre série étaient porteurs d'une délétion 8pter d'une taille relativement proche, de 4.9 à 7 Mb, associée à une duplication 8p interstitielle de taille plus variable, de 8.4 à 33.6 Mb.

Sur le plan clinique, tous les patients (fœtus exclus) présentaient une DI (légère chez 4/21 patients et modérée à sévère chez 17/21 patients). Onze patients présentaient une ACC (totale chez 7 patients, partielle chez 4 patients), associée à d'autres malformations cérébrales (malformation de la fosse postérieure, anomalie de la substance blanche, hypoplasie du tronc cérébral) pour 4 d'entre eux. La comparaison de la taille des duplications des patients de notre série avec ACC (partielle et totale) avec celle précédemment proposée dans la littérature nous a permis de réduire la région minimale critique dupliquée à une région commune de 1 Mb. Cette région contient un unique gène, nouveau gène candidat pour l'ACC.

## CYTOGÉNÉTIQUE ET REMANIEMENTS CHROMOSOMIQUES

**#3492 : Difficultés des corrélations génotype-phénotype dans les délétions 5p15.1-p13.3 : Cas d'un enfant ayant une délétion 5p15.1-p14.2 associée à une épilepsie de type Lennox-Gastaut**

### Auteurs :

Fatma Abdelhedi (1), Syrine Hizem (1), Jean-Marc Pinard (1), Aziza Lebbar (1), Jean-Michel Dupont (1)

1. Service de Cytogénétique, Hôpital Cochin, Paris, France

**Mots clefs :** Délétions 5p15.1-p13.3, épilepsie de type Lennox-Gastaut, Cadhérines

### Résumé :

Les délétions du bras court du chromosome 5 sont généralement associées au syndrome du cri du chat avec une région critique située en p15.2-p15.31. D'autres délétions plus proximales au niveau de la région 5p15.1-p13.3 ont été décrites. Ces délétions sont associées à une grande variabilité phénotypique allant du retard mental syndromique à un phénotype normal. Nous rapportons le cas d'un enfant de 15 ans ayant une délétion impliquant la région 5p15.1-p14.2 associée à une épilepsie rebelle de type Lennox-Gastaut et un syndrome dysmorphique et nous discutons l'implication de ce réarrangement dans le tableau clinique du patient.

L'analyse chromosomique sur puce à ADN (ACPA), a mis en évidence une délétion au niveau de la région 5p14.2-p15.1 de 6,17Mb, héritée de sa mère. La délétion de notre patient emporte uniquement quatre gènes OMIM (CDH18, CDH12, PMCHL1 et PRDM9) dont deux (CDH18 et CDH12) font partie de la superfamille des cadhérines de type 2, qui sont exprimés presque exclusivement dans le cerveau adulte et fœtal et jouent un rôle dans le développement cérébral et la synaptogénèse. Ces deux gènes seraient impliqués dans certaines maladies neuropsychiatriques telles que l'autisme et la schizophrénie. Par ailleurs, PMCHL1 est impliqué dans la transmission synaptique. Bien que cette délétion soit héritée, elle pourrait être impliquée dans le phénotype de notre patient vu les rôles importants des gènes concernés dans le développement cérébral et la transmission synaptique. En effet, il a été suggéré que la variabilité phénotypique associée aux délétions impliquant la région 5p15.1-p13.3 pourrait être secondaire à l'existence de modificateurs géniques tels que les micro- RNA. Notre observation illustre les difficultés des corrélations génotype-phénotype dans le cas des délétions qui englobent la région 5p15.1-p14.2 et par conséquent les difficultés du diagnostic prénatal et du conseil génétique.

## CYTOGÉNÉTIQUE ET REMANIEMENTS CHROMOSOMIQUES

### #3517 : Prader-Willi et syndrome de Klinefelter : Association fortuite ou non ?

#### Auteurs :

Ahlem Achour (1), Lilia Kraoua (1), Mediha Trabelsi (1), Leila Dardour (1), Ines Ouertani (1), Molka Sebai (1), khawla Khachnaoui (1), Imen Boujelbene (1), Rym Benabdelaziz (2), Neila Belguith (3), Neji Tbib (2), Ridha Mrad (1)

1. Service des Maladies Congénitales et Héritaires, Hôpital Charles Nicolle, Tunis, Tunisie
2. Service de Pédiatrie et des Maladies Métabolique, Hôpital la Rabta, Tunis, Tunisie
3. Service de Génétique médicale, Hôpital Hédi Chaker, Sfax, Tunisie

**Mots clés :** Prader-Willi , syndrome de Klinefelter , 47, XXY ,la méthylation du locus *SNRPN* ,hétérodisomie maternelle.

#### Résumé :

L'association entre le syndrome de Klinefelter et le syndrome de Prader-Willi est très rare. Seulement neufs cas ont été rapportés dans la littérature.

Dans ce travail, nous rapportons le dixième cas d'un patient Tunisien qui présente un syndrome de Klinefelter associé à un syndrome de Prader –Willi.

Le patient a été adressé au service des Maladies Congénitales et Héritaires, de l'Hôpital Charles Nicolle, à Tunis, à l'âge de 27 jours pour hypotonie néonatale et anomalies du développement sexuel. L'âge maternel au moment de la conception était de 38 ans. L'accouchement était à terme par césarienne pour diminution des mouvements fœtaux. Le nouveau-né a été hospitalisé pour hypotonie sévère associée à une mauvaise succion. L'examen des organes génitaux externes avait montré des testicules inguinaux et un micropénis. Le reste de l'examen somatique était sans particularité.

Devant ce tableau, un caryotype sanguin a été réalisé et avait montré une formule chromosomique 47, XXY. Devant l'hypotonie néonatale, un bilan thyroïdien et une tomodensitométrie cérébrale ont été réalisés et étaient normaux. Une étude de la méthylation du locus *SNRPN* a été faite et avait montré un profil compatible avec le syndrome de Prader-Willi.

L'étude par hybridation *in situ* fluorescente n'avait pas montré de délétion du locus *SNRPN*.

La recherche d'une disomie parentale avait montré une contribution bi-allélique d'origine maternelle. Ainsi, le mécanisme génétique retenu était une hétérodisomie maternelle.

Sur les 9 cas rapportés, tous les patients avaient une formule chromosomique 47, XXY. L'origine de l'X surnuméraire a été étudié chez 4 patients sur 9 et avait montré une origine maternelle dans la moitié des cas. Le syndrome de Prader –Willi était en rapport avec une délétion du locus *SNRPN* chez 5 / 7 patients étudiés.

Dans les quatre cas étudiés, les anomalies génétiques étaient d'origine parentale différente. Ceci serait en faveur du caractère fortuit de cette association, d'autant plus que le syndrome de klinefelter est l'anomalie gonosomique la plus fréquente. Chez notre patient, la détermination de l'origine de l'X surnuméraire est en cours.

En conclusion, l'association entre le syndrome de Klinefelter et le syndrome de Prader-Willi serait aléatoire, et le conseil génétique devrait se faire de manière indépendante.

## CYTOGÉNÉTIQUE ET REMANIEMENTS CHROMOSOMIQUES

### #3531 : Syndrome de Williams-Beuren : à propos de 47 cas tunisiens

#### Auteurs :

Molka Sebai (1), Leila Dardour (2), Lilia Kraoua (2), Ines Ouertani (2), Ahlem Achour (2), Imen Boujelbene (2), Khaoula Khachnaoui (2), Rania Ben Rabeh (2), Myriem Chaabouni (2), Faouzi Maazoul (2), Rym Meddeb (2), Mediha Trabelsi (2), Ridha Mrad (2)

1. Service des maladies Congénitales et Héréditaires, Hôpital Charles Nicolle, Tunis, Tunisie
2. Service des maladies Congénitales et Héréditaires, Hôpital Charles Nicolle , Tunis, Tunisie

**Mots clefs :** Syndrome de Williams-Beuren , étude clinique , 47 cas tunisiens , association autisme et syndrome de Williams-Beuren

#### Résumé :

Le syndrome de Williams-Beuren (SWB) est une maladie génétique rare. Elle est due à une microdélétion en 7q11.23. Sa prévalence est de 1/7500-1/20000 naissances vivantes. Le phénotype clinique inclue une dysmorphie faciale typique, un retard mental, un profil neuropsychologique particulier et des malformations cardiaques congénitales. La sténose Aortique supra-valvulaire est l'atteinte cardiaque la plus fréquente. D'autres anomalies peuvent être associées : oculaires, squelettiques, rénales et dentaires.

Notre objectif était de définir le profil clinique du SWB.

Nous rapportons une étude clinique de 47 patients tunisiens présentant un SWB. Tous les patients ont bénéficié d'une consultation de génétique. La confirmation du diagnostic de SWB a été faite par hybridation in situ (FISH) en utilisant la sonde MD Williams-Beuren.

L'âge moyen au moment du diagnostic était de 4ans et 4 mois. Tous les patients présentaient une dysmorphie faciale caractéristique du SWB. Une cardiopathie congénitale a été retrouvée dans 72% des cas (31/43) à type de sténose de l'artère pulmonaire (13/31) , de sténose Aortique supra-valvulaire (8/31) et autres (10/31). Un retard mental était présent à des degrés variables, seuls 3 patients présentaient un intellect normal. La majorité des patients présentaient un profil cognitif caractéristique du SWB. Deux patients sur les 47 présentaient des traits autistiques. D'autres anomalies moins fréquentes ont été retrouvées : des anomalies dentaires (25/47), des anomalies oculaires (17/47) et des anomalies squelettiques (16/47). L'hypercalcémie infantile idiopathique a été retrouvée chez 2/4 patients. La recherche de réarrangements chromosomiques impliquant le locus ELN par FISH chez 31 sur 94 parents n'a pas révélé d'anomalie.

Les signes caractéristiques du SWB (la dysmorphie faciale, le retard mental et la cardiopathie congénitale) ont été retrouvés dans notre étude à des fréquences similaires à celles décrites dans la littérature. Le type de cardiopathie le plus fréquent était la sténose de l'artère pulmonaire. La fréquence des anomalies oculaires et squelettiques était moins importante que celle rapportée . L'autisme a rarement été associé au SWB . Il a été retrouvé chez 2 patients de notre série. La microdélétion dans le SWB est le plus souvent de novo, tel est le cas chez nos patients. La prise en charge du SWB reste multidisciplinaire.

## CYTOGÉNÉTIQUE ET REMANIEMENTS CHROMOSOMIQUES

### #3532 : Corrélations phénotypes – génotypes dans les cas de délétion terminale du bras long du chromosome 7.

#### Auteurs :

Seemi Ayub (1), Macoura Gadjji (1), Kada Krabchi (1), Bruno Maranda (1), Régen Drouin (2)

1. Service de Génétique, Département de Pédiatrie, Faculté de Médecine et des Sciences de la Santé, Université de Sherbrooke, Sherbrooke, Canada

2. Service de génétique médicale, Département de Pédiatrie, CHUL-CHUQ, Université Laval, Québec, Canada

**Mots clefs :** Chromosome 7, délétion terminale, bras long, phénotype, génotype

#### Résumé :

**Introduction-** La monosomie partielle du bras long du chromosome 7 est associée avec un large spectre de manifestations cliniques, particulièrement l'holoprosencéphalie et les anomalies du sacrum. Cependant il reste à déterminer une relation claire entre le génotype et le phénotype dans le cas du syndrome de délétion 7q.

**Objectifs-** Étudier trois cas cliniques possédant tous une délétion du bras long du chromosome 7 mais présentant des phénotypes cliniques différents. Faire une revue de littérature des cas rapportés.

**Matériels et méthodes-** Les caryotypes des trois cas ont été réalisés à partir de cellules sanguines en utilisant la méthode de marquage GTG de base ainsi qu'à haute résolution. A l'aide de sondes subtélomériques, nous avons aussi réalisé une hybridation *in situ* en fluorescence (FISH), nous avons également réalisé une analyse par la technique des microsatellites, nous avons utilisé différents marqueurs spécifiques du chromosome 7. Une analyse par micropuces a aussi été faite.

**Résultats-** Le cas numéro #1 portait une délétion *de novo* de 6.6 Mb au niveau de la bande 7q36.2 du chromosome hérité de la mère. Le point de cassures de cette délétion était localisé entre les marqueurs D7S483 et D7S798. La délétion impliquait 49 gènes, dont 20 gènes OMIM. Le cas #2 était porteur d'une délétion terminale *de novo* de 13.8 Mb dont le point de cassures était localisé à la bande 7q35 du chromosome 7 hérité du père. Le point de cassures de cette délétion était localisé entre les marqueurs D7S661 et D7S2426. Dans ce cas, la délétion incluait 166 gènes, dont 63 gènes OMIM. Le cas #3 était porteur d'une délétion terminale *de novo* de 7.2 Mb au niveau de la bande 7q36.1 et d'une duplication de 1.2 Mb localisée à la bande Xq28. Le point de cassures de cette délétion était localisé entre les marqueurs D7S688 et D7S483. Un total de 54 gènes, dont 23 gènes OMIM était impliqué dans cette délétion. Cependant les cas deux et trois ne présentaient aucune holoprosencéphalie ou une absence de sacrum. Si on considère l'ensemble des délétions 7q35 et 7q36, le retard de croissance était le symptôme observé le plus souvent. L'holoprosencéphalie et les anomalies du sacrum se retrouvent chez moins de 10% des cas de tous les cas rapportés de délétions terminales du bras long du chromosome 7. L'holoprosencéphalie a surtout été observée dans les cas de translocation non équilibrée. La très grande hétérogénéité phénotypique des cas de délétion terminale rend difficile l'établissement de corrélations phénotype – génotype.

**Conclusion-** Les cas présentés ici soulignent l'importance et le rôle des facteurs environnementaux (l'hérédité multifactorielle), des gènes modificateurs, les variations de structure dans les régions non-codantes, la pénétrance et/ou les polymorphismes sur les différents phénotypes observés dans le cas de délétion 7q.

## CYTOGÉNÉTIQUE ET REMANIEMENTS CHROMOSOMIQUES

### #3535 : Syndrome de Turner : à propos de 180 patientes tunisiennes

#### Auteurs :

Molka Sebai (1), Lilia Kraoua (2), Mediha Trabelsi (2), Ines Ouertani (2), Ahlem Achour (2), Imen Boujelbene (2), Khaoula Khachnaoui (2), Leila Dardour (2), Rania Ben Rabeh (2), Rym Meddeb (2), Faouzi Maazoul (2), Lamia Ben Jemaa (2), Ines Kammoun (3), Habiba Chaabouni (2), Ridha Mrad (2)

1. Service des maladies Congénitales et Héréditaires, Hôpital Charles Nicolle, Tunis, Tunisie
2. Service des maladies Congénitales et Héréditaires, Hôpital Charles Nicolle , Tunis, Tunisie
3. Service d'Endocrinologie et des Maladies Métaboliques, Institut National de Nutrition, Tunis, Tunisie

**Mots clés :** Syndrome de Turner , étude clinique , 180 patientes tunisiennes , corrélation cytogénétique-phénotype

#### Résumé :

Le syndrome de Turner (ST) est l'anomalie gonosomique la plus fréquente chez les filles (1/2500 naissances féminines). Elle résulte d'une délétion totale ou partielle d'un chromosome X. Ses principales caractéristiques sont le retard statural et l'insuffisance ovarienne.

Notre objectif était de déterminer les principaux signes cliniques du ST et d'établir une éventuelle corrélation cytogénétique-phénotype.

Nous rapportons les résultats d'une étude clinique rétrospective réalisée sur dix ans (2000-2010), incluant 180 patientes tunisiennes porteuses du ST.

L'âge au moment du diagnostic variait de 1 jour de vie à 56 ans. La majorité des patientes avaient un âge de plus de 20 ans (103/180). Les principaux motifs de consultation étaient l'aménorrhée primaire (41/180), les fausses couches répétées (33/180) et la dysmorphie faciale chez les filles de moins de 2 ans (9/13). Le retard statural et l'impubérisme ont été retrouvés respectivement chez 51% (93/180) et 33% (48/143) des patientes. L'aménorrhée secondaire a été notée dans 12% des cas. Notre série est particulière par la fréquence importante de la monosomie en mosaïque du chromosome X (54% ). L'étude chromosomique a montré par ailleurs une monosomie du chromosome X homogène dans 28% des cas et des anomalies de structure de l'X chez 18% des patientes. Les ST avec un mosaïcisme présentaient un retard de croissance et une aménorrhée primaire alors que les cas avec une monosomie homogène de l'X présentaient des fausses couches répétées et une aménorrhée secondaire.

Le caryotype en mosaïque était majoritaire. Notre étude montre une corrélation cytogénétique-phénotype concordante avec celle rapportée dans la littérature. La réalisation d'un caryotype sanguin doit être indiquée chez toute femme présentant des troubles de la reproduction même en l'absence de retard statural.

**Auteurs :**

Wafa Slimani (1), Hela Ben Khélifa (1), Afef Jelloul (1), Hanène Hannahi (1), Hayet Ben Hmida (2), Rania Sakka (2), Ali Saad (1), Soumaya Mougou-Zerelli (1)

1. Service de Cytogénétique et Biologie de la Reproduction, Hôpital universitaire Farhad Hached de Sousse, Sousse, Tunisie, Sousse, Tunisie
2. Service de Néonatalogie, Centre de maternité et de Néonatalogie de Monastir, CHU Fattouma Bourguiba Monastir, Monastir, Tunisie

**Mots clefs :** duplication 9p, isochromosome 9p, Marqueur chromosomique surnuméraire, dysmorphie faciale, CGH, FISH

**Résumé :**

La duplication 9p est un syndrome bien reconnu sur le plan clinique (S dup9p). Il inclut une microcéphalie et une dysmorphie faciale particulièrement reconnaissable. Ici, nous rapportons les caractéristiques cliniques et les résultats cytogénétiques de trois patients avec différents réarrangements chromosomiques entraînant une duplication 9p complète chez 2 patients et une tétrasomie chez le troisième.

Sur le plan phénotypique, les trois patients présentent la même dysmorphie faciale comprenant des oreilles bas-implantées, des fentes palpébrales horizontales, un hypertélorisme et une microretrognathie avec une microcéphalie. Les 3 patients présentaient un retard psychomoteur. Une fente labio palatine et des pieds bots ont été observés chez un patient. Les réarrangements chromosomiques ont été caractérisés par caryotype conventionnel suivi d'une hybridation *in situ* fluorescente (FISH) et une hybridation génomique comparative sur réseau (CGH array). Le caryotype a montré 3 réarrangements différents. Chez le premier, un marqueur chromosomique surnuméraire (MCS) classé comme un dérivé du bras court du chromosome 9 a été identifié. Le deuxième patient a montré la présence d'un MCS mais sous la forme d'un isochromosome 9p (iso9p) et le dernier a montré une duplication du bras court du chromosome 9 (dup9p). La CGH array a permis de bien délimiter l'étendue de la duplication à 38Mb de 9p13.1 à 9p24.3. Les caryotypes des parents sont revenus sans anomalies dans tous les cas.

Les caractéristiques cliniques des 3 patients ainsi que les résultats cytogénétiques concordent bien avec celles rapportées dans la littérature. Trois différentes aberrations chromosomiques : un MCS 9p, un iso9p ou une dup9p ont été identifiées pour une entité, le S.dup9. Contrairement à la majorité des cas rapportés dans la littérature, la duplication n'est pas secondaire à une translocation parentale. Elle est apparue de *Novo* chez les trois patients ce qui suggère qu'un accident est survenu au cours de la méiose.

Le S.dup9 comporte une région minimale critique 9p22.3-9p22.2 responsable du phénotype observé. Une variété de gènes morbides tels que *KANK1*, *GLIS3*, *KCNV2* et *SLC1A1* sont connus impliqués dans la formation du cytosquelette, le développement embryonnaire et la signalisation cellulaire. En 9p22, le gène *CER1* exprimé dans le mésoderme antérieur de l'embryon au stade gastrula et le gène *FREM1* essentiel pour l'adhésion de l'épiderme pourraient contribuer à une dérégulation au cours du développement pouvant conduire à des anomalies orofaciales. Néanmoins, il est nécessaire d'étudier l'effet de dosage d'autres gènes dans cette région pour avoir une corrélation génotype phénotype complète du S.dup9.

## CYTOGÉNÉTIQUE ET REMANIEMENTS CHROMOSOMIQUES

**#3572 : La Trisomie 8 en mosaïque chez un homme de 45 ans avec trouble de la reproduction : a propos d'un cas**

### Auteurs :

Nourhene Gharbi (1), Ikhlas Ben Ayed (2), Fatma Abdelhedi (1), Hassen Kamoun (1), Neila Belguith (1)

1. Service de génétique, CHU Hedi Chaker, Sfax, Tunisie
2. Service de génétique, CHU Hedi Chaker, Sfax, France

**Mots clefs :** trisomie 8 en mosaïque, retard mental, trouble de la reproduction

### Résumé :

#### Résumé

La trisomie 8 en mosaïque est une anomalie chromosomique définie par la présence d'un chromosome 8 surnuméraire dans certaines cellules de l'organisme. Son incidence annuelle est comprise entre 1/25 000 et 1/50 000. Elle est trois à cinq fois plus fréquente chez les garçons que chez les filles. Cette anomalie chromosomique est caractérisée par un tableau phénotypique variable incluant une dysmorphie faciale, un déficit intellectuel modéré, des anomalies articulaires, urinaires, cardiaques et squelettiques variables.

Nous rapportons le cas d'un patient âgé de 45 ans sans antécédents familiaux particuliers, qui nous a consulté pour échec de la reproduction avec des fausses couches à répétition chez sa femme. L'examen du patient montre une dysmorphie faciale caractéristique à type de scaphocéphalie, un nez large avec des narines antéversées, de grandes oreilles dysplasiques avec un anthélix proéminent et épais. Le patient est de grande taille avec un tronc long et fin, des épaules et un bassin étroits. Il a en plus un retard mental moyen avec une communication qui est normale. Un caryotype en bande G a mis en évidence la présence d'une trisomie 8 en mosaïque dans 20% des cellules analysées avec une formule chromosomique : 46,XY[24]/47,XY,+8[6].

La trisomie 8 en mosaïque est le résultat d'un événement post-zygotique avec une grande variabilité phénotypique. Dans la majorité des cas; les patients ont un déficit intellectuel modéré comme notre patient, mais certains ont une intelligence normale. Outre les atteintes articulaires, cardiaques, urinaires et squelettiques; la trisomie 8 en mosaïque est l'une des anomalies cytogénétiques les plus communes dans les syndromes myélodysplasiques et les hémopathies malignes. La puberté chez ces patients se déroule généralement d'une façon normale, avec des cas rapportés dans la littérature de retard pubertaire ou de ménopause précoce. Les sujets porteurs de trisomie 8 en mosaïque peuvent être fertiles bien que certains spermatozoïdes peuvent porter le chromosome 8 surnuméraire et se manifester lors de la fécondation par des fausses couches avec des zygotes qui ont une trisomie 8 homogène comme pour notre patient. La prise en charge doit être pluridisciplinaire. Le conseil génétique s'impose et un DPI peut être proposé pour le couple.

## CYTOGÉNÉTIQUE ET REMANIEMENTS CHROMOSOMIQUES

#3590 : L'identification d'une duplication 7q31 associée à un tableau de déficience intellectuelle syndromique : quelle implication phénotypique?

### Auteurs :

ikhlas ben ayed (1), FATMA ABDELHEDI (2), Nourhène Gharbi (1), Ines Hsairi (3), Houda benothman (3), EMNA ELLOUZE (3), neila belguith (4), Chahnez triki (5), Hassen kamoun (4)

1. service de génétique médicale , CHU Hédi Chaker, SFAX, Tunisie
2. service de génétique médicale , CHU Hédi Chaker , SFAX, Tunisie
3. service de neuropédiatrie , CHU Hédi Chaker, SFAX, Tunisie
4. service de génétique médicale , CHU Hédi Chaker, sfax, Tunisie
5. service de neuropédiatrie , CHU Hédi Chaker, sfax, Tunisie

**Mots clefs** : duplication, 7q31, IMMPL2, déficience intellectuelle syndromique

### Résumé :

BEN AYED I<sup>1</sup>, Hsairi I<sup>2</sup>, Abdelhedi F<sup>1</sup>, Gharbi N<sup>1</sup>, BEN OTHMAN H<sup>2</sup>, ELLOUZE E<sup>2</sup>, BELGUTH N<sup>1</sup>, TRIKI C<sup>2</sup>. KAMOUN H<sup>1</sup> .

1 : Service de génétique Médicale, CHU Hédi Chaker , SFAXX. TUNISIE

2 : Service de Neuropédiatrie, CHU Hédi Chaker , SFAXX. TUNISIE

Le gène *IMMPL2*, localisé en 7q31, est le premier gène découvert comme candidat pour le syndrome de Gilles de la Tourette (SGT). Ce syndrome désigne l'association de tics moteurs et vocaux avec une co-morbidité psychiatrique variable. Le gène *IMMPL2* est un gène conservé codant pour une protéine de la membrane interne mitochondriale. Des réarrangements impliquant la région 7q31 responsable de la délétion du gène *IMMPL2* ont été rapportés chez des patients présentant un trouble envahissant du développement.

Nous rapportons dans ce travail une duplication de 322 Kb en 7q31 qui rompt le gène *IMMPL2* chez un patient qui présente une déficience intellectuelle syndromique. Le tableau clinique inclut une dysmorphie faciale (faite d'une microcéphalie, un hypertélorisme, deux bosses frontales et une micrognathie), un retard psychomoteur d'emblé et une hypotonie majeure.

Nous discutons dans ce travail l'implication de ce CNV dans le phénotype de notre patient.

---

# POSTERS

DIAGNOSTIC PRÉNATAL, DIAGNOSTIC PRÉ IMPLANTATOIRE

---

## DIAGNOSTIC PRÉNATAL, DIAGNOSTIC PRÉ IMPLANTATOIRE

**#2360 : Une anomalie chromosomique survenue aux premiers stades de développement embryonnaire mise en évidence lors d'un DPI moléculaire**

### Auteurs :

Gaëlle THIERRY (1), Sandra MERCIER (1), Sophie PEDRONNO (1), Amélie ROCHER-MONNIER (1), Jenna LAMMERS (2), Florence LEPELIER (2), Thomas FREOUR (2), Stéphane BEZIEAU (1), Sébastien SCHMITT (1), Cédric LE CAIGNEC (1)

1. Service de Génétique Médicale, CHU de Nantes, NANTES, France
2. Biologie et médecine de la reproduction, CHU de Nantes, NANTES, France

**Mots clefs :** DPI, Steinert, disomie uniparentale

### Résumé :

Le diagnostic préimplantatoire (DPI) permet à des couples à risque de transmettre une anomalie génétique d'avoir des enfants indemnes de la pathologie familiale. En France, il est proposé uniquement dans les cas où l'anomalie génétique familiale est clairement identifiée et reconnue comme responsable d'une pathologie d'une particulière gravité et incurable au moment de la prise en charge. Cette anomalie peut être chromosomique ou moléculaire.

Le cas présenté ici concerne une demande de DPI moléculaire pour une maladie de Steinert de type 1. Il s'agit d'une dystrophie myotonique se déclarant à l'âge l'adulte. L'anomalie moléculaire responsable de cette maladie consiste en une expansion pathologique de triplets CTG dans la partie 5'UTR du gène DMPK localisé sur le chromosome 19. Les antécédents de maladie de Steinert sont présents dans la branche maternelle du couple demandeur du DPI. Le statut des membres de la famille et des embryons a été déterminé par une méthode indirecte (étude de marqueurs polymorphiques dans la région du gène DMPK) et une méthode semi-directe (détection des allèles de taille normale uniquement).

Des résultats surprenants ont été obtenus pour un des embryons le jour du DPI et lors de sa ré-analyse. Le jour du DPI, nous avons mis en évidence les deux haplotypes paternels dans deux blastomères différents. La ré-analyse cellule par cellule de l'embryon a montré une hétérodisomie paternelle de cette région du chromosome 19 en mosaïque. Nous avons alors émis l'hypothèse d'une correction d'une trisomie 19 zygotique dès les premières divisions du développement embryonnaire.

Cette anomalie chromosomique n'a pu être mise en évidence chez cet embryon que parce que nous recherchions une anomalie moléculaire familiale portée par le chromosome 19. Ce cas souligne la difficulté de rendre un résultat génétique pour un embryon entier sur l'analyse de seulement deux cellules prises "au hasard" à un stade embryonnaire précoce, cellules qui peuvent ne pas être représentatives de l'ensemble des cellules de l'embryon.

## DIAGNOSTIC PRÉNATAL, DIAGNOSTIC PRÉ-IMPLANTATOIRE

**#2416 : Diagnostic prénatal d'un syndrome Hartsfield: conseil génétique délicat dans un contexte de mosaïque germinale**

### Auteurs :

Laurent Nasca (1), caroline Toga (1), Jean-Baptiste Haumonte (1), Claude D'ercole (1), Michel Panuel (2), Cathelin Vilain (3), annie Levy-Mozziconacci (4)

1. Service de Médecine Foetale CHU Nord, APHM, Marseille, France
2. Service de radiologie, CHU Nord, APHM, Marseille, France
3. Service de génétique, Hopital Erasme ULB, Bruxelles, Belgique
4. Service de médecine foetale, CHU Nord, APHM, Marseille, France

**Mots clefs :** Hartsfield, holoprosencéphalie, ectrodactylie, mosaïque germinale

### Résumé :

Le syndrome d'Harstfield-Bixler est une pathologie génétique décrite pour la première fois en 1984 devant un hypertélorisme associé à une holoprosencéphalie et une ectrodactylie.

La mise en évidence de mutations causales du gène FGFR1 a été décrite par l'équipe de Vilain et al (2013) associée à ce syndrome. La transmission peut être récessive ou dominante selon le site de la mutation.

Nous rapportons un cas de récurrence prénatale de ce syndrome chez une femme de 31 ans sans antécédent particulier. La découverte fortuite à l'échographie du 2ème trimestre d'une fente labiopalatine bilatérale, d'une agénésie du corps calleux et d'une ectrodactylie des quatre membres a nécessité une échographie de contrôle dans un centre pluridisciplinaire de médecine fœtale qui a permis de mettre également en évidence une holoprosencéphalie lobaire et des oreilles mal ourlées et basses implantées. Tous les signes ont été confirmés par IRM. Devant cette association malformative, le syndrome de Harstfield Bixler est suspecté. Une IMG est réalisée à 24 SA à la demande du couple. Une mutation du gène FGFR de type c.1867G > T p.D623Y est retrouvée sur les cellules cultivées du liquide amniotique. Cette mutation est associée à une transmission dominante ou à des cas de novo. L'absence d'antécédents familiaux et de signes cliniques évoquant une forme familiale, le conseil génétique a été rassurant et basé uniquement sur un contrôle échographique des prochaines grossesses. La patiente est enceinte un an plus tard, du même conjoint. L'échographie du premier trimestre retrouve une ectrodactylie des quatre membres, une fente labio-palatine bilatérale et une possible holoprosencéphalie lobaire permettant de diagnostiquer une récurrence de syndrome de Hartsfield. La patiente subit une IMG à 14SA. La recherche mutationnelle réalisée chez les parents ne retrouve pas l'anomalie génétique. L'hypothèse de mosaïque germinale est avancée avec un risque de récurrence évalué à 50%.

Les données de la littérature rapportent un seul cas de mosaïque germinale décrit en 2014 par Dhamija et al chez deux frères, mais notre observation est la première décrite à notre connaissance au cours de la grossesse.

## DIAGNOSTIC PRÉNATAL, DIAGNOSTIC PRÉ-IMPLANTATOIRE

**#2430 : Diagnostic pré-implantatoire pour chondrodysplasie ponctuée dominante liée à l'X liée à la présence d'un mosaïcisme germlinal parental**

### Auteurs :

Victoria Viart (1), Marjolaine Willems (2), Aliya Ishmukhametova (1), Stéphanie Plaza (1), Fabienne Dufernez (3), Tal Anahory (4), Samir Hamamah (5), Sébastien Schmitt (6), Mireille Claustres (1), Anne Girardet (1)

1. Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHRU Montpellier, Montpellier, France
2. Département de Génétique Clinique, CHRU Montpellier, Montpellier, France
3. Laboratoire de Génétique (LCBGM), Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Paris, France
4. Département de Gynécologie Obstétrique, CHRU Montpellier, Montpellier, France
5. Département de Biologie de la Reproduction et du Développement, CHRU Montpellier, Montpellier, France
6. Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHRU Nantes, Nantes, France

**Mots clefs :** Diagnostic pré-implantatoire, chondrodysplasie ponctuée dominante liée à l'X, mosaïcisme germlinal, single sperm-typing

### Résumé :

La chondrodysplasie ponctuée dominante liée à l'X de type II (CDPX2) (ou syndrome de Conradi-Hünermann-Happle) est une pathologie rare dont la prévalence est estimée à moins de 1/400 000. Plus de 95% des sujets atteints sont de sexe féminin car la plupart des embryons masculins hémizygotes meurent *in utero*. Les principales anomalies caractéristiques incluent des calcifications ponctuées épiphysaires, une ichthyose congénitale sévère et des atteintes oculaires. Le diagnostic moléculaire est posé par l'identification de variants délétères dans le gène *EBP* en Xp11.22-p11.23.

Une demande de diagnostic pré-implantatoire (DPI) a été adressée au centre de Montpellier pour un couple non consanguin en bonne santé pour lequel deux interruptions médicales de grossesses de deux fœtus de sexe féminin atteints de CDPX2 avaient été réalisées. Des analyses moléculaires réalisées sur différents types de prélèvements du couple (sang, cellules buccales, sperme total) n'avaient pas permis de retrouver la variation c.623\_626dup identifiée chez les fœtus. Aussi, un mosaïcisme germlinal d'origine maternelle était l'hypothèse la plus probable pour rendre compte de la récurrence de CDPX2 dans cette famille.

Lors de l'étude de faisabilité génétique pré-DPI, un haplotype maternel commun « à risque » a été identifié chez les deux fœtus atteints, distincts de l'haplotype maternel transmis à la fille aînée du couple, non porteuse du variant. Un protocole de PCR multiplex a été mis au point sur cellules uniques afin d'étudier le variant causal et douze marqueurs microsatellites proches du gène *EBP*.

Le premier cycle de DPI a conduit à l'analyse de six embryons, tous de sexe masculin. Le variant causal n'a été détecté chez aucun d'entre eux, mais un seul a présenté l'haplotype maternel « non à risque » et a été transféré dans l'utérus maternel. Les cinq autres embryons ayant hérité de l'haplotype maternel « à risque » ont été vitrifiés dans l'attente d'investigations complémentaires.

Bien que l'hypothèse d'un mosaïcisme germlinal d'origine maternelle ne soit pas exclue, ces résultats nous ont conduit à reconsidérer la possibilité d'un mosaïcisme germlinal d'origine paternelle malgré l'absence de détection du variant dans le sperme total. Afin d'étudier cette hypothèse, une analyse de spermatozoïdes isolés a été réalisée mettant en évidence la présence du variant chez environ 4% des spermatozoïdes étudiés. Ces résultats ont conduit à un changement radical du conseil génétique et du choix des embryons transférables puisqu'aucun embryon de sexe masculin ne peut être atteint. Suite au transfert de l'un des embryons vitrifiés, une grossesse est actuellement en cours.

Ce cas illustre clairement que *i)* le mosaïcisme germlinal parental est un risque majeur d'erreur dans le cadre du DPI où le diagnostic repose principalement sur des études de ségrégation d'haplotypes ; *ii)* la technique de *single sperm-typing* permet la détermination sans équivoque de l'origine paternelle d'un mosaïcisme.

## DIAGNOSTIC PRÉNATAL, DIAGNOSTIC PRÉ-IMPLANTATOIRE

### #2505 : Syndrome de Sensenbrenner : à propos d'un cas de révélation anténatale

#### Auteurs :

Michèle Mathieu-Dramard (1), Charles Muszynski (2), Florence Jobic (1), Ségolène Lanta (2), Jean Gondry (2), Guillaume Jedraszak (3), Anthony Fichten (4), Valérie Cormier-Daire (5), Céline Huber (5), Gilles Morin (1)

1. Service de Génétique Clinique et Oncogénétique, CHU Amiens, Amiens, France
2. Centre Pluridisciplinaire de Diagnostic Prénatal, CHU Amiens, Amiens, France
3. Laboratoire de Cytogénétique et Biologie de la Reproduction, CHU Amiens, Amiens, France
4. Service de Neurochirurgie, CHU Amiens, Amiens, France
5. Département de Génétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France

**Mots clefs :** Sensenbrenner, dysplasie crânio-ectodermique, diagnostic anténatal, IFT43

#### Résumé :

Le syndrome de Sensenbrenner ou dysplasie crânio-ectodermique associe une dysmorphie crânio-faciale avec scaphocéphalie, des anomalies squelettiques (thorax étroit, os longs courts, extrémités très brèves) et des anomalies ectodermiques. Cette pathologie très rare de transmission autosomique récessive a un pronostic incertain, fonction de la capacité respiratoire et des différentes atteintes viscérales possiblement associées : insuffisance rénale par néphronoptise, fibrose hépatique, atteinte cardiaque, rétinopathie. Cette ciliopathie est hétérogène sur le plan génétique et implique au moins 4 gènes différents codant pour des protéines de transport intra-flagellaire (IFT) : *IFT122* (MIM#218330), *WDR35* (MIM#613610), *IFT43* (MIM#614099) et *WDR19* (MIM#608151).

Nous rapportons l'observation d'un garçon de 6 ans dont la période anténatale a été compliquée par la découverte d'une nuque épaisse à 12 SA (caryotype fœtal 46, XY sans anomalie), puis à 32 SA d'un hydramnios, d'os longs courts avec brièveté des extrémités, une ensellure nasale marquée, et un aspect anormal du crâne avec rétraction bitemporale. L'examen post-natal avait révélé une scaphocéphalie avec un front proéminent, des membres courts, des extrémités particulièrement brèves avec une hypoplasie des ongles et une syndactylie bilatérale des 2<sup>e</sup> et 3<sup>e</sup> orteils, suggérant le diagnostic de dysplasie crânio-ectodermique.

L'évolution était marquée par la confirmation d'une crâniosténose de la suture sagittale opérée à l'âge de 7 mois, des difficultés respiratoires, des dents de petite taille et une croissance lente des cheveux. A l'âge de 6 ans, la taille était normale de même que le développement psychomoteur.

Le diagnostic de syndrome de Sensenbrenner était confirmé par la mise en évidence de 2 mutations hétérozygotes du gène *IFT43*.

## DIAGNOSTIC PRÉNATAL, DIAGNOSTIC PRÉ-IMPLANTATOIRE

**#2629 : Présentation anténatale de la Neurofibromatose de type 1: cas d'un fœtus avec neurofibrome plexiforme étendu.**

### Auteurs :

florence Démurger (1), Laurent Pasquier (2), céline Chappé (3), Laurent Riffaud (4), Lena Damaj (2), dominique Vidaud (5), Sylvie Odent (1)

1. service de génétique clinique, Hôpital sud, Rennes, France
2. service de génétique clinique, Hôpital sud, rennes, France
3. service d'hématologie pédiatrique, hôpital sud, rennes, France
4. service de neurochirurgie, Hôpital Pontchaillou, Rennes, France
5. service de génétique et biologie moléculaire, Hôpital Cochin, paris, France

**Mots clefs :** NF1; neurofibrome plexiforme; diagnostic prénatal; macrosomie ; hydramnios

### Résumé :

La Neurofibromatose de type 1 est une maladie génétique de transmission autosomique dominante touchant 1 personne sur 3500, le plus souvent bénigne. Cette pathologie prédispose aux tumeurs nerveuses telles que les neurofibromes plexiformes, présents chez 50% des individus atteints et se développant aux dépens des gaines nerveuses. Ces neurofibromes sont dans la majorité des cas présents dès la naissance. Seuls quelques cas de révélation anténatale ont été décrits à ce jour.

Nous rapportons le cas d'un fœtus de mère porteuse d'une NF1 typique non compliquée dont la grossesse a été marquée par un hydramnios, une macrosomie avec macroglossie et dont les imageries postnatales ont révélé l'existence d'un neurofibrome plexiforme étendu des plexus brachiaux à l'origine d'une compression cervico-thoracique et médullaire se manifestant cliniquement par une hypotonie néonatale avec un déficit moteur du membre supérieur gauche et des difficultés alimentaires. La biopsie a permis de confirmer le caractère bénin de cette lésion nerveuse et l'analyse moléculaire a confirmé la présence d'une mutation dans le gène NF1 héritée de sa mère.

Cette famille reflète l'extrême variabilité d'expression intrafamiliale de la NF1. Toute anomalie échographique détectée chez un fœtus de mère NF1 doit faire évoquer une forme sévère nécessitant des explorations complémentaires telles que l'IRM afin de préciser le diagnostic ainsi que le pronostic.

## DIAGNOSTIC PRÉNATAL, DIAGNOSTIC PRÉ-IMPLANTATOIRE

**#2692 : Bilan de l'étude moléculaire des gènes TSC1 et TSC2 réalisée pour 175 fœtus suite à la découverte de tumeurs cardiaques à l'échographie prénatale**

### Auteurs :

Marie Claire Malinge (1), Estelle Colin (1), Agnes Guichet (1), Stéphane Triau (2), Séverine Manceau (1), Carine Repussard (1), Sarah Prestwich (1), Béatrice Vary (1), Denis Farges (3), Dominique Bonneau (1)

1. Département de Biochimie Génétique, CHU Angers, Angers, France
2. UF de Foetopathologie - Fédération de Pathologie cellulaire et tissulaire, CHU Angers, Angers, France
3. Service de Neuropédiatrie, CHU Angers, Angers, France

**Mots clefs :** Sclérose tubéreuse de Bourneville Tumeurs cardiaques foetales Gènes TSC1 et TSC2

### Résumé :

La sclérose tubéreuse de Bourneville (STB) est une maladie autosomique dominante, pouvant toucher différents organes (cerveau, peau, cœur, rein ...). L'échographie prénatale permet de détecter des tumeurs cardiaques qui sont les formes les plus précoces de la maladie. Les rhabdomyomes cardiaques représentant 70 à 80% de l'ensemble des tumeurs cardiaques sont associées à la STB dans 33 à 70% des cas selon la littérature. Le plus souvent, les rhabdomyomes cardiaques n'ont pas de conséquence sur la fonction cardiaque; cependant, ils peuvent être à l'origine de troubles hémodynamiques engageant le pronostic vital. Le risque majeur de la STB est du à la présence de lésions cérébrales responsables de retard du développement, d'épilepsie et de troubles du comportement.

#### Matériel et méthodes

L'étude porte sur une cohorte de 175 fœtus recrutés sur signes d'appel échographiques (tumeurs cardiaques) à partir de 34 centres français et étranger. Le terme de la grossesse lors de la découverte des tumeurs varie de 17 SA à 39 SA.

La recherche et l'identification des mutations ont été effectuées à partir de liquide amniotique, sang fœtal ou tissus foetaux par DHPLC puis séquençage des exons à tracé modifié pour les gènes TSC1 et TSC2 et la recherche de grands remaniements a été réalisée par la technique MLPA (MRC Holland).

#### Résultats et discussion

Pour ces 175 fœtus, le diagnostic de STB a été suspecté suite à la découverte anténatale de tumeurs cardiaques chez 174 fœtus et de kystes rénaux pour 1 fœtus (non muté). La mutation causale a été identifiée et le diagnostic de STB confirmé chez 134 fœtus (76.6%). Les mutations touchent le gène TSC2 pour 119 fœtus (88.8%) et TSC1 pour 15 fœtus (11.2%).

Les tumeurs cardiaques étaient multiples chez 143 fœtus (82.2%), uniques dans 12 cas (6.9%) et le nombre de tumeurs n'était pas précisé pour 19 fœtus (10.9%). Le diagnostic de STB a été confirmé chez 125 fœtus (87.4%) ayant des tumeurs cardiaques multiples, chez 6 fœtus (50%) ayant une tumeur cardiaque unique et chez 13 fœtus (68.4%) où le nombre de tumeur n'était pas renseigné. Aucune mutation n'a été identifiée pour 40 fœtus.

Nous avons les résultats de l'IRM cérébrale pour 76 fœtus parmi les 175 fœtus dépistés. 60 fœtus (78.9 %) présentaient des tubers corticaux et/ou des nodules sous épendymaires et 16 fœtus (21.1%) ne montraient aucune lésion.

Parmi les 60 fœtus ayant des lésions cérébrales, 57 fœtus (95.2%) présentaient des tumeurs cardiaques multiples. L'étude moléculaire a confirmé le diagnostic pour 44 fœtus (77.2%). Pour les 3 fœtus (4%) présentant des tumeurs cardiaques en nombre inconnu, l'étude moléculaire a confirmé le diagnostic.

Parmi les 16 fœtus sans lésions cérébrales, 12 fœtus (75%) présentaient des tumeurs cardiaques multiples. L'étude moléculaire a confirmé le diagnostic pour 8 fœtus (66.7%). Pour les 4 fœtus (25%) présentant une tumeur cardiaque unique, l'étude moléculaire a confirmé le diagnostic pour 1 fœtus.

## DIAGNOSTIC PRÉNATAL, DIAGNOSTIC PRÉ-IMPLANTATOIRE

#2693 : A propos de discordances foeto-placentaires.

### Auteurs :

Francis RAMOND (1), Fabienne PRIEUR (1), Véronique AUDOUARD (1), Dominique GONON (1), Sylvie BLANZAT (1), Floriane CONVERT (1)

1. Génétique clinique, chromosomique, et moléculaire, CHU de Saint-Etienne, Saint-Etienne, France

**Mots clefs :** Discordance foeto-placentaire, caryotype foetal, ponction de villosités chorales, diagnostique prénatal, trisomie 21, remaniements chromosomiques, cytogénétique, FISH

### Résumé :

Un prélèvement de villosités chorales (PVC) pour caryotype est proposé à un couple, dans le contexte d'une clarté de nuque à 4,3mm pour une longueur crânio caudale à 63mm, au premier trimestre de la grossesse.

Il s'agit d'une patiente primigeste de 27 ans, sans antécédent particulier.

Le caryotype réalisé après culture courte en 48 heures, montre la présence dans toutes les cellules examinées d'un dérivé du chromosome 6, dont la nature est difficile à préciser à ce stade : délétion 6p pure ou add 6 (p25). La technique FISH ne peut être pratiquée à ce stade, faute de matériel. Un caryotype des parents est demandé.

La culture de PVC montre un caryotype 46,XY sans anomalie décelée. Compte tenu du résultat de l'analyse directe, une technique FISH avec la sonde télomérique 6p est réalisée, et montre une délétion subtélomérique de cette région, survenue *de novo*.

La délétion 6p est responsable d'un syndrome malformatif pouvant comporter une cardiopathie, des anomalies oculaires, une surdité, une scoliose et un retard intellectuel. Le couple sollicite une interruption médicale de grossesse qui est acceptée par le CPDPN.

Cependant, le caryotype foetal réalisé sur culture de fibroblastes de cordon ombilical, objective contre toute attente l'existence d'une trisomie 21 libre homogène. L'étude en FISH permet en outre de retrouver la délétion cryptique 6p terminale.

Ce fœtus est donc porteur de deux anomalies chromosomiques :

- un remaniement de structure intéressant les bras courts du chromosome 6, qui semble différent sur le cytotrophoblaste et sur les cellules de l'axe mésenchymateux.
- une trisomie 21 libre homogène non diagnostiquée sur la PVC. Une étude rétrospective en FISH sur plus de 200 noyaux sur la culture ne permet pas de déceler cette anomalie. Il s'agit là d'une discordance complète.

Les discordances concernant des déséquilibres liés à des anomalies de structure chromosomiques sont rares. Leur taille peut varier d'un tissu à l'autre (cassure postzygotique de dicentrique ou autre, avec apparition de délétions ou duplications cryptiques). La sélection d'un remaniement cryptique moins « délétère » est classique chez le fœtus.

Les discordances foeto-placentaire représentent 1 à 2% des prélèvements de PVC. Les discordances complètes seraient beaucoup plus rares 0,08 % des PVC, selon van Den Berg.

Cette observation nous montre l'intérêt et les limites des examens réalisés à partir de PVC : le caryotype réalisé en technique directe nous a permis de suspecter rapidement l'anomalie 6p, mais en revanche la trisomie 21 n'a pas été détectée. Dans cette situation, cette deuxième anomalie n'a pas été préjudiciable dans la mesure où une IMG avait été réalisée pour une première indication, mais ce n'est pas toujours le cas. Ceci pose aussi le problème des limites des autres analyses réalisées sur PVC, comme l'ACPA. Il montre également l'intérêt des examens systématiques après IMG.

## DIAGNOSTIC PRÉNATAL, DIAGNOSTIC PRÉ-IMPLANTATOIRE

**#2705 : Quand le caryotype conventionnel est plus performant que l'ACPA en prénatal: cas d'un isochromosome 20q.**

### Auteurs :

Aline RECEVEUR (1), Sophie BRISSET (1), Anne BAZIN (2), Laurence LHOMANN (2), Jelena MARTINOVIC (3), Claire COLMANT (4), Dominique PINEAU (1), Valérie GAUTIER (1), Lucie TOSCA (1), Gérard TACHDJIAN (1)

1. Histologie, Embryologie et Cytogénétique, Hôpital Antoine Béchère, CLAMART, France
2. Cytogénétique, Laboratoire CERBA, Cergy Pontoise, France
3. Service de Foetopathologie, Hôpital Antoine Béchère, CLAMART, France
4. Unité de Diagnostic Prénatal et Médecine Foetale, CHU du Kremlin Bicêtre, CLAMART, France

**Mots clefs :** ACPA, isochromosome 20q, diagnostic prénatal, liquide amniotique, malformations foetales

### Résumé :

Les isochromosomes sont des anomalies de structure très rares en diagnostic prénatal. Ils génèrent une trisomie pour un bras chromosomique et une monosomie pour l'autre.

Nous rapportons le 5<sup>ème</sup> cas d'isochromosome 20q en diagnostic prénatal, détecté après la culture du liquide amniotique et associé à des signes d'appel échographiques.

Une patiente G4P1 a bénéficié d'une amniocentèse au terme de 24SA pour des hémivertèbres thoraciques.

L'analyse chromosomique par puce à ADN et par FISH à partir du liquide amniotique non cultivé n'a pas décelé de déséquilibre génomique. Après la culture, le caryotype a montré 12/12 clones porteurs d'un isochromosome : 46,XX,i(20)(q10). Ce résultat confirmé par puce à ADN et par FISH montrait un isochromosome 20q homogène. Les caryotypes parentaux étaient normaux.

A la suite du conseil génétique, une interruption médicale de grossesse a été réalisée. A l'examen foetopathologique, le fœtus présentait une atteinte vertébrale étagée, une dysmorphie cranio faciale et des pieds en piolet.

Le caryotype conventionnel et la FISH du sang au cordon et des tissus fœtaux ne montrait aucune anomalie (46,XX).

Dans la littérature, environ 24 cas d'isochromosomes 20q ont été rapportés en diagnostic prénatal, dont seulement 4 avec des malformations fœtales, notamment des atteintes cérébrales et vertébrales.

L'analyse chromosomique montrait une mosaïque allant de 12 à 90% à partir du liquide cultivé. En revanche, une discordance était notée dans 2 cas pour lesquels une CGHarray avait été effectuée à partir du liquide non cultivé : il n'y avait aucune anomalie génomique.

Parmi les 20 cas pour lesquels l'échographie était initialement normale, les nouveau-nés n'ont jamais présenté de malformation, ni de retard psychomoteur.

Le caryotype du sang au cordon ou des tissus fœtaux était toujours normal, sauf pour un cas qui présentait une mosaïque tissulaire significative.

Nous décrivons le 5<sup>ème</sup> cas d'isochromosome 20q en diagnostic prénatal associé à des malformations fœtales. Il s'agit du seul cas bien documenté par des examens complémentaires et présentant une anomalie homogène à la culture du liquide amniotique.

L'isochromosome 20q est une anomalie dont la présentation cytogénétique n'est pas classique.

En effet, il existe une discordance entre le caryotype de la culture du liquide amniotique qui présente l'anomalie, souvent en mosaïque et l'analyse du liquide natif où elle est absente.

A ce résultat s'associe un caryotype des tissus fœtaux, en général normal, ce qui laisserait supposer que cette anomalie serait restreinte aux cellules amniotiques. Aucune malformation n'était notée chez les nouveau-nés en absence de signe d'appel échographique, ceci permet d'orienter le conseil génétique qui reste difficile.

Le résultat normal par puce à ADN dans le liquide natif dans les 2 cas cités et le nôtre, soulève la question du risque de faux négatif en utilisant uniquement cette technique dans le liquide non cultivé, lors des diagnostics prénataux.

## DIAGNOSTIC PRÉNATAL, DIAGNOSTIC PRÉ-IMPLANTATOIRE

**#2710 : Diagnostic prénatal d'une délétion 17q24.1q24.2 de 2.5 Mb impliquant les gènes PRKCA et KPNA2 chez un fœtus avec un rétrognathisme et des pieds varus équin.**

### Auteurs :

Marie-Emmanuelle Naud (1), Lucie Tosca (1), Jelena Martinovic (2), Julien Saada (3), Corinne Metay (1), Loïc Drevillon (1), Virginie Benoit (1), Alexandra Benachi (3), Sophie Brisset (1), Gérard Tachdjian (1)

1. Histologie Embryologie Cytogénétique, Hôpital Antoine Bécère, Hôpitaux Universitaires Paris Sud, Clamart , France
2. Unité de Foetopathologie, Hôpital Antoine Bécère, Hôpitaux Universitaires Paris Sud, Clamart , France
3. Service de Gynécologie Obstétrique, Hôpital Antoine Bécère, Hôpitaux Universitaires Paris Sud, Clamart , France

**Mots clefs :** Diagnostic prénatal, délétion 17q, PRKCA, KPNA2

### Résumé :

Le syndrome microdélétionnel 17q24.2 associe une déficience intellectuelle, un retard de langage, une obésité troncale et une dysmorphie. Tous les cas rapportés à ce jour ont été décrits en période postnatale.

Le syndrome de Silver-Russel, associant un retard de croissance pré et post natal, une macrocéphalie relative, un visage triangulaire, des anomalies du squelette et une clinodactylie du 5<sup>ème</sup> doigt a déjà été décrit chez des patients présentant une délétion de cette même région chromosomique.

Nous reportons ici le premier cas de diagnostic prénatal d'une microdélétion 17q24.1q24.2 de 2.5 Mb, *de novo*, caractérisée par CGH-array (PreCytoNEM 105K, Agilent), à partir d'un prélèvement de liquide amniotique natif. Cet examen a été réalisé suite à la découverte par échographie à 22 semaines d'aménorrhée d'un rétrognathisme, d'un hydramnios et de pieds varus équin bilatéraux chez le fœtus. La rétrognathie et les pieds varus équin ont été confirmés à l'examen foetopathologique. Ces anomalies étaient associées à une dolichocéphalie, un hypertélorisme, des sillons sous-orbitaires marqués, une pointe du nez abaissée et des oreilles petites et bas implantées, aux antitragus proéminents et sans lobule à droite.

Dans notre observation, le fœtus présentait des anomalies auriculaires, décrites chez des patients présentant un syndrome de Silver Russel. Le rétrognathisme et les anomalies du nez présents chez le fœtus ont quant à eux été observés chez des patients présentant un syndrome de Nijmegen.

La microdélétion entraîne la perte des gènes *PRKCA* et *KPNA2*. Le gène *PRKCA* code pour la protéine kinase C-alpha. Son expression cérébrale en fait un bon candidat pour expliquer la déficience intellectuelle observée chez les patients déjà décrits. Le gène *KPNA2* code pour la karyopherin alpha-2, une protéine de transport intranucléaire. Il pourrait être responsable du phénotype observé dans le syndrome de Silver-Russel et aurait un rôle dans le transport intranucléaire du complexe NBS1 impliqué dans le syndrome de Nijmegen. Nous discutons le rôle du gène *KPNA2* dans la survenue des anomalies auriculaires, des anomalies du nez et du rétrognathisme observés chez le fœtus.

## DIAGNOSTIC PRÉNATAL, DIAGNOSTIC PRÉ-IMPLANTATOIRE

#2722 : De L'ACPA prénatale au traitement postnatal : à propos d'un cas rare de syndrome par déficit en IGSF1

### Auteurs :

Béatrice NADAUD (1), Nicolas CHATRON (1), James LESPINASSE (2), Audrey LABALME (3), Sarah CASTETS (4), Eudeline ALIX (1), Aurélie DE SUREMAIN (5), Caroline SCHLUTH-BOLARD (3), Marc NICOLINO (6), Marianne TILL (3), Damien SANLAVILLE (1)

1. Laboratoire de Cytogénétique , Groupement Hospitalier Est, LYON, France
2. UF de Génétique, Centre Hospitalier Métropole Savoie, Chambéry, France
3. Laboratoire de Cytogénétique , Groupement Hospitalier Est, Lyon, France
4. Endocrinologie, diabétologie et métabolisme pédiatrique, Groupement Hospitalier Est, LYON, France
5. Service de réanimation néonatale et néonatalogie, Centre Hospitalier Métropole Savoie, Chambéry, France
6. Endocrinologie, diabétologie et métabolisme pédiatrique, Groupement Hospitalier Est, Lyon, France

**Mots clefs :** ACPA, diagnostic prénatal, gène IGSF1, hypothyroïdie congénitale centrale

### Résumé :

Une étude en Analyse Chromosomique sur Puce à ADN (ACPA) a été demandée pour une primipare à 32 semaines d'aménorrhées (SA) en raison de la présence chez le fœtus d'un hydramnios, d'os longs courts et d'une diminution de la perception des mouvements actifs fœtaux.

L'ACPA prénatale a été réalisée avec une puce Agilent 8 x 60 kb (PréCytoNEM/N° AMADID 050330) et a mis en évidence chez un fœtus masculin, après lecture visuelle de tous les profils chromosomiques, une délétion en Xq26.2 de 189,7kb impliquant un seul gène dans sa partie initiale : *IGSF1*. Cette délétion a été confirmée en qPCR.

Le gène *IGSF1* est exprimé dans l'hypophyse et les testicules. Il intervient dans la synthèse et la sécrétion de la thyroid stimulating hormone (TSH), thyroid receptor hormone (TRH) et du récepteur à la TRH. Des mutations et des délétions au sein d'*IGSF1* ont été rapportées dans la littérature comme responsables d'un nouveau syndrome lié à l'X : syndrome par déficit en *IGSF1*. Il se caractérise par une hypothyroïdie congénitale centrale, un déficit en prolactine, une obésité, des perturbations métaboliques plus ou moins associés à un retard de croissance et/ou à un retard pubertaire avec macroorchidie. Les manifestations cliniques et biologiques sont absentes à la naissance. Le ralentissement de la croissance et le retard de développement sont manifestes vers l'âge de 4 à 6 mois. Le déficit en *IGSF1* est responsable d'une hypothyroïdie congénitale centrale et n'est donc pas dépistable à la naissance.

Ce résultat a été rendu comme probablement pathogène avec nécessité d'une surveillance immédiate à la naissance. Une surveillance biologique et clinique instaurée dès la naissance a permis de mettre en évidence une insuffisance thyroïdienne biologique dès 3 semaines de vie. Un traitement par L-thyroxine et des règles hygiéno-diététiques ont été instaurés. A 6 mois de vie, cet enfant a une croissance staturopondérale et un développement psychomoteur parfait.

L'enquête familiale a montré que la mère est conductrice. Son bilan thyroïdien est en cours. La délétion n'a pas été retrouvée chez la grand-mère maternelle de l'enfant. Devant un bilan thyroïdien normal chez le frère de la mère, l'anomalie n'a pas été recherchée.

Nous rapportons ici l'importance de la lecture visuelle de tous les profils des chromosomes et de la vérification de tous les remaniements même de taille inférieure au seuil prédéfini en ACPA en période prénatale. L'intérêt, ici a également été la possibilité mettre en place un traitement avant l'apparition des symptômes puisque le diagnostic de cette pathologie traitable avait été faite en période prénatale

## DIAGNOSTIC PRÉNATAL, DIAGNOSTIC PRÉ-IMPLANTATOIRE

### #2725 : Diagnostic prénatal de syndrome de Lowe devant une cataracte bilatérale isolée chez un fœtus de sexe masculin

#### Auteurs :

Marjolaine WILLEMS (1), Jean-Michel Faure (2), Françoise Deschamps (3), Gilles Burlet (2), Anaïg Flandrin (2), Alain Couture (4), John Rendu (5)

1. Génétique Médicale, CHRU de Montpellier, Montpellier, France
2. Gynécologie Obstétrique, CHRU de Montpellier, Montpellier, France
3. Gynécologie Obstétrique, Cabinet d'Echographie Anténatale Les Tonnelles, Montpellier, Montpellier, France
4. Radiologie Pédiatrique, CHRU de Montpellier, Montpellier, France
5. Laboratoire de Biologie Moléculaire, UF de Biochimie et Génétique Moléculaire Département de Biochimie Pharmacologie Toxicologie, CHU de Grenoble, Grenoble, France

**Mots clefs :** syndrome de Lowe, OCRL1, cataracte isolée, diagnostic prénatal

#### Résumé :

Nous décrivons un cas de syndrome de Lowe diagnostiqué en anténatal de manière systématique devant une cataracte isolée chez un fœtus de sexe masculin. Le syndrome de Lowe est une affection rare (prévalence de 1/500000) caractérisée par l'association d'une cataracte congénitale, d'une atteinte neurologique avec hypotonie puis retard psychomoteur global de modéré à sévère, et atteinte rénale avec tubulopathie proximale évoluant vers une insuffisance rénale terminale habituellement avant 20 ans. Il s'agit d'une affection de transmission liée à l'X, en lien avec des mutations du gène *OCRL1*.

Il s'agit de la troisième grossesse d'un couple bien portant non apparenté dont les deux filles sont en bonne santé. La mère et la grand-mère maternelle du père ont été opérées d'une cataracte après 70 ans. Les marqueurs sériques et l'échographie du premier trimestre ne révélaient pas de risque particulier. L'échographie réalisée à 23SA + 5 jours révélait des mensurations eutrophiques, un sexe fœtal masculin, une quantité de liquide amniotique normale, mais une mauvaise visualisation des cristallins. Un contrôle effectué à 26 SA+ 5 jours révélait une cataracte bilatérale isolée sans anomalie de croissance du globe oculaire ni anomalie associée. L'IRM fœtale réalisée à 25 SA confirmait la cataracte bilatérale sans anomalie anatomique, notamment cérébrale, et des mensurations normales. Le contrôle de l'IRM à 32 SA révélait une maturation cérébrale normale. Une consultation de génétique était proposée à 28 SA, après avoir exclu les causes infectieuses, conduisant à proposer la réalisation d'une amniocentèse afin d'écartier de manière systématique une cause chromosomique, une maladie de Norrie et un syndrome de Lowe. Cet examen réalisé tardivement, à 33SA, mettait en évidence la présence de la mutation c.1351G > A (p.Asp451Asn) du gène *OCRL1* à l'état hémizygoté, permettant le diagnostic de syndrome de Lowe chez le fœtus, conduisant le couple à demander une interruption médicale de grossesse. La mère est porteuse de la mutation à l'état hétérozygote. L'enquête familiale est en cours.

La cataracte congénitale est une pathologie affectant moins de 0,5% des nouveaux-nés en France, isolée dans 50% des cas. Les causes classiques sont les embryofœtopathies virales ou parasitaires, les maladies métaboliques, et les anomalies chromosomiques, généralement révélées par un syndrome malformatif. Le bilan étiologique proposé devant la découverte d'une cataracte en anténatal ne fait pas l'objet d'un consensus. Dans le cas de ce fœtus, il s'agissait d'une cataracte isolée, sans anomalie morphologique ou maturative cérébrale, sans hydramnios et sans antécédent familial pouvant faire craindre une pathologie sévère. Nous discutons de l'intérêt d'un bilan étiologique le plus exhaustif possible en anténatal devant la gravité de certaines étiologies rares de cataracte congénitale, incluant notamment de manière systématique pour les fœtus de sexe masculin l'analyse du gène *OCRL1*.

## DIAGNOSTIC PRÉNATAL, DIAGNOSTIC PRÉ-IMPLANTATOIRE

#2731 : Intérêt du caryotype chez les deux membres du couple demandeur de DPI moléculaire.

### Auteurs :

Gaëlle THIERRY (1), Sébastien SCHMITT (1), Sophie PEDRONNO (1), Amélie ROCHER-MONNIER (1), Aurélien GAUTEUL (1), Anne-Laure BAUDUIN (1), Florence LEPERLIER (2), Carole SPLINGART (2), Claire BENETEAU (1), Kamran MORADKHANI (1), Stéphane BEZIEAU (1), Paul BARRIERE (2), Cédric LE CAIGNEC (1)

1. Service de Génétique Médicale, CHU de Nantes, NANTES, France
2. Biologie et médecine de la reproduction, CHU de Nantes, NANTES, France

**Mots clefs** : DPI, Caryotype, Double indication.

### Résumé :

Le Diagnostic PréImplantatoire (DPI) permet à des couples de ne pas transmettre une maladie génétique grave et incurable qui ségrège dans leur famille. Cette prise en charge est relativement lourde et coûteuse mais permet à environ 30% de ces couples d'avoir des enfants sains. L'analyse génétique réalisée sur les embryons a pour seul but de connaître leur statut vis-à-vis d'une anomalie génétique particulière, préalablement identifiée dans la famille.

Lorsque l'indication de la demande est une anomalie chromosomique portée par un des membres du couple, il est généralement demandé à l'autre membre du couple de réaliser un caryotype pour s'assurer qu'il n'y a pas une autre anomalie chromosomique qui pourrait être transmise et faire l'objet d'une deuxième indication de DPI pour ce même couple.

La réalisation des caryotypes chez un couple demandeur d'un DPI moléculaire est également discutée. Le risque d'être porteur, sans le savoir, d'une anomalie chromosomique, existe également pour ces couples. Nous avons donc décidé, à Nantes, de demander systématiquement les résultats du caryotype des deux membres du couple avant de présenter le dossier au Centre Pluridisciplinaire de DPI. Nous vous présentons ici les cas d'anomalies chromosomiques découvertes fortuitement dans le cadre d'une demande de DPI dans notre centre.

## DIAGNOSTIC PRÉNATAL, DIAGNOSTIC PRÉ-IMPLANTATOIRE

#2785 : Le dépistage de la trisomie 21 par marqueurs sériques et clarté nucale en France en 2014

### Auteurs :

Audrey ZEBINA (1), Pascale LEVY (2), Fabienne PESSIONE (2), Dominique ROYERE (2)

1. Direction Procréation, Embryologie et Génétique humaines, Agence de la biomédecine, Saint Denis La Plaine , France

2. Direction Procréation, Embryologie et Génétique humaines, Agence de la biomédecine, Saint-Denis La Plaine, France

**Mots clefs** : dépistage, trisomie 21, Agence de la biomédecine, marqueurs sériques maternels

### Résumé :

Créée par la loi de bioéthique en 2004, l'agence de la biomédecine (ABM) exerce ses missions notamment dans le domaine du diagnostic prénatal.

En France, toute femme enceinte peut bénéficier du dépistage de la trisomie 21. Si le dépistage combiné du 1er trimestre (marqueurs sériques maternels 1er trimestre (MSM 1T), clarté nucale(CN)) est favorisé, le recours au dépistage séquentiel intégré (CN au 1er trimestre et marqueurs sériques maternels du 2nd trimestre (MSM2T)) ou au dépistage du 2nd trimestre (MST2T seuls) reste possible.

Ce dispositif est encadré par l'arrêté de mai 2013 modifiant l'arrêté de juin 2009 fixant les bonnes pratiques et confiant à l'ABM son évaluation.

Dans ce cadre, les laboratoires de biochimie transmettent 2 fois par an les données individuelles portant sur l'activité d'un semestre de dépistage : données nécessaires au calcul de risque, son résultat et pour les risques  $\geq 1/250$  le résultat du caryotype.

L'analyse comparative des résultats d'activité 2014 est présentée par type de dépistage.

Pour l'année 2014, 660 816 examens de dépistage ont été transmis par les 87 laboratoires de biochimie en activité : 523 875 tests MSM1T, 68995 tests séquentiels et 67946 tests MSM2T seuls. La comparaison avec les données agrégées de 2013 suggère un manque d'exhaustivité à l'exception du test MSM1T.

Les femmes qui ont réalisé en 2014 un test de dépistage combiné de la trisomie 21 sont en moyenne plus âgées (29,9 ans) que celles ayant eu un test utilisant les MSM du 2<sup>ème</sup> trimestre : séquentiel intégré (29 ans) ou les MSM2T seuls (28,9 ans).

La fréquence des tests positifs (risque  $\geq 1/250$ ) atteint 4% au niveau national ; elle est significativement plus faible pour les tests incluant la mesure de la clarté nucale (3,4% pour les tests combinés, 3,2% pour les tests séquentiels et 9,5% pour les tests des MSM2T seuls).

La valeur prédictive positive (VPP) a été estimée à partir des femmes à risque pour lesquelles la réalisation d'un caryotype et son résultat sont connus (35% des femmes à risque).

La VPP est plus élevée pour les tests MSM1T (9,5%) que pour les tests séquentiels (4,7%) et les tests des MSM2T seuls (3,1%).

Malgré les écarts constatés entre le test combiné MSM1T et le test des MSM2T seuls, la fréquence des trisomies 21 diagnostiquées à l'issue d'un dépistage positif parmi l'ensemble des femmes ayant réalisé un test de dépistage est de 0,1% pour ces 2 tests.

Quant au test séquentiel, cette fréquence est de 0,05%, inférieure à celles des 2 autres tests ( $p < 0,0001$ ).

L'interprétation de ces différences nécessite des analyses complémentaires (biais dans les données manquantes, date du prélèvement ou de la mesure de la CN, populations différentes : âges des femmes...).

Au final, en France le dispositif permet un dépistage de qualité de la trisomie 21 aux différents stades de la grossesse. Ces analyses seront poursuivies sur les données 2015. Elles sont particulièrement importantes dans le contexte de l'arrivée du dépistage non invasif.

## DIAGNOSTIC PRÉNATAL, DIAGNOSTIC PRÉ-IMPLANTATOIRE

### #2786 : Faux négatif en diagnostic prénatal: une trisomie 21 échappe aux méthodes de génétique moléculaire

#### Auteurs :

Céline Dupont (1), Camille Leroy (1), Jonathan Rosenblatt (2), Jonathan Levy (1), Sandra Bhattacharjee (1), Adeline Thaly (1), Aurélie Marc (1), Séverine Drunat (3), Eva Pipiras (4), Brigitte Benzacken (5), Jean-François Oury (2), Anne-Claude Tabet (1)

1. UF de Cytogénétique -Département de Génétique, Hôpital Robert Debré (AP-HP), Paris, France
2. Service de Gynécologie Obstétrique, Hôpital Robert Debré (AP-HP), Paris, France
3. UF de Génétique Moléculaire-Département de Génétique, Hôpital Robert Debré (AP-HP), Paris, France
4. Service d'Histologie-Embryologie et Cytogénétique, Biologie de la Reproduction, Hôpital Jean Verdier (AP-HP), Bondy, France
5. Service d'Histologie-Embryologie et Cytogénétique, Biologie de la Reproduction-, France ; UFR-SMBH, Paris XIII, France, Hôpital Jean Verdier (AP-HP), Bondy, France

**Mots clefs :** diagnostic prénatal, faux négatif, trisomie 21

#### Résumé :

Le diagnostic prénatal chromosomique repose de plus en plus sur l'utilisation de méthodes de génétique moléculaire reposant sur une analyse quantitative de L'ADN. De nombreuses études ont montré l'intérêt de ces techniques en diagnostic prénatal chromosomique en dépit de leur interprétation parfois difficile.

Nous rapportons le cas d'une patiente enceinte de 24 SA adressée au centre de diagnostic prénatal pour cardiopathie (CAV et tétralogie de Fallot) compliquée d'une anasarque et absence d'os propre du nez . Une amniocentèse et une ponction de sang fœtal ont été réalisées. Un diagnostic rapide chromosomique par la méthode des Prenatal BoBs™ effectué sur le liquide amniotique non cultivé s'est révélé normal. Quelques jours plus tard, les cultures sur sang fœtal puis sur liquide amniotique ont montré une formule chromosomique à 46 chromosomes avec la présence d'un chromosome 21 anormal. Devant cette discordance entre le diagnostic rapide et la culture, plusieurs examens ont été réalisés en parallèle : une FISH du chromosome 21 sur liquide non cultivé, une FISH sur amniocytes et sang fœtal cultivés afin de caractériser ce der(21), et une analyse par microsatellite des liquides amniotiques et sang fœtal afin d'éliminer une erreur technique. Une ACPA avait été lancée en parallèle sur le liquide amniotique natif suite à la normalité du résultat des BoBs.

La FISH interphasique sur liquide amniotique non cultivé a mis en évidence une mosaïque cellulaire: une population trisomique 21 et une population monosomique 21 en proportion équivalente. L'étude par microsatellite des ADN issus du liquide amniotique et du sang fœtal comparés aux sangs parentaux a montré que les profils alléliques obtenus sur le liquide amniotique et le sang fœtal correspondaient au même fœtus, montrant une trisomie 21 sur le sang fœtal non observable sur le liquide amniotique. L'ACPA réalisée sur le liquide non cultivé n'a montré aucune déviation du log ratio sur le chromosome 21. La FISH métaphasique sur liquide amniotique et sang fœtal a montré qu'il s'agissait d'un chromosome 21 isodicentrique. A la demande du couple, une seconde amniocentèse a été réalisée et a confirmé la trisomie 21 par anomalie de structure.

Les techniques de cytogénétique moléculaire sont de plus en plus utilisées en diagnostic prénatal.

Ce cas illustre l'intérêt et l'apport des méthodes cytogénétiques morphologiques comme la FISH associées à ces techniques moléculaires purement quantitatives. En effet, chez ce fœtus, la mosaïque (50% cellules trisomiques/50% cellules monosomiques) présente dans le liquide amniotique non cultivé rend indétectable la trisomie 21 par des méthodes purement quantitatives comme les BoBs, l'analyse des microsatellites et l'ACPA, aboutissant à un faux négatif dans un premier temps, très difficile à vivre pour les parents, une fois le diagnostic établi.

## DIAGNOSTIC PRÉNATAL, DIAGNOSTIC PRÉ-IMPLANTATOIRE

### #3068 : Cas rare d'X-fragile prénatal avec rétraction d'expansion de triplet CGG ?

#### Auteurs :

Pascal MOUTY (1), Laure RAYMOND (1), Saïd EL MOUATASSIM (1), Alain LIQUIER (2), Luc DRUART (3), Anne PARIS (4), Virginie DORIAN (2), Isabelle PICHON (1), Jean-Luc DHERBEY (1), Grégory EGEA (5)

1. Département Génétique, Biomnis Lyon, Lyon, France
2. Consultation de Génétique et conseil génétique, CPDPN, Hôpital Bagatelle Bordeaux, Bordeaux, France
3. Service de cytogénétique, Biomnis Paris, Paris, France
4. (4) Service de Gynécologie-Obstétrique et CPDPN, Hôpital Bagatelle Bordeaux, Bordeaux, France
5. Département Génétique, Biomnis Lyon, LYON, France

**Mots clefs :** X Fragile, mosaïque, prénatal

#### Résumé :

Nous rapportons le cas d'une patiente, Mme LE., enceinte, adressée en consultation de conseil génétique en raison d'antécédents familiaux de syndrome de l'X fragile. En effet, deux apparentés de sexe masculin présenteraient un retard mental et une apparentée des difficultés d'apprentissage.

Le syndrome de l'X fragile est dû à l'inhibition de la transcription du gène *FMR1* (Xq27.3), causée par l'expansion de la répétition de triplets (CGG)<sub>n</sub> dans sa région 5' non traduite et les méthylations qui s'en suivent.

Dans ce contexte, une analyse du gène *FMR1* au moyen du kit AmpliX *FMR1* (Assuragen) avec amorce interne CGG (permettant d'évaluer la taille de l'expansion du promoteur) est réalisée au laboratoire. Le résultat met en évidence un allèle normal à 20 (+/-2) répétitions CGG et un allèle comprenant plus de 200 répétitions CGG chez la patiente.

Compte tenu de la grossesse en cours, un diagnostic prénatal à partir du liquide amniotique est réalisé. Le caryotype révèle un sexe masculin sans anomalie chromosomique décelée. L'analyse moléculaire de l'X fragile est réalisée sur du liquide direct et après culture cellulaire. L'étude des microsatellites ne révèle pas de contamination maternelle (9 marqueurs microsatellites informatifs).

Le résultat de l'analyse moléculaire sur liquide direct et culture montre un profil surprenant avec un allèle normal d'intensité faible à 32 (+/-2) répétitions CGG et un allèle méthylé comprenant plus de 200 répétitions CGG. Le couple est informé que le fœtus masculin porteur d'une mutation complète est atteint du syndrome de l'X fragile. Une demande d'interruption médicale de grossesse est jugée recevable par le CPDPN.

L'étude en FISH avec la sonde centromérique du chromosome X et du chromosome Y ne révèle pas de cellules de type 47,XXY sur plus de 200 noyaux analysés.

Au final, deux hypothèses sont possibles :

- Un profil en mosaïque de type 47,XXY/46,XY avec une mosaïque <1% et non détectée par la FISH.
- Une mosaïque de type mutation complète/ allèle normal liée à une rétraction de l'allèle mutée en allèle normal (32 CGG +/-2 répétitions)

Des études sont en cours afin de confirmer l'une des deux hypothèses.

## DIAGNOSTIC PRÉNATAL, DIAGNOSTIC PRÉ-IMPLANTATOIRE

### #3082 : Diagnostic anténatal échographique dysplasie métatropique : une nouvelle observation

#### Auteurs :

Aline Vincent (1), Christian Paillet (2), Catherine Sembely-Taveau (3), Viviane Himily (1), Dominique Carles (4), Carine Arlicot (5), Valérie Cormier-Daire (6), Annick Toutain (1)

1. Service de Génétique, Centre Hospitalier Universitaire , Tours, France
2. Service d'imagerie médicale, ultrasons; Unité de médecine foetale, Centre Hospitalier Universitaire , Tours, France
3. Service de Radiologie Pédiatrique, Centre Hospitalier Universitaire , Tours, France
4. Service d'anatomie et cytologie pathologiques, unité de pathologie foetoplacentaire, Hopitale Pellegrin, Centre Hospitalier Universitaire, Bordeaux, France
5. Service de Gynécologie Obstétrique B, Unité de Médecine Foetale, Centre Hospitalier Universitaire , Tours, France
6. Service de Génétique Médicale, Institut Imagine, Hopital Necker, Paris, France

**Mots clefs** : dysplasie métatropique, dysplasie spondylo-épi-métaphysaire, TRPV4, diagnostic anténatal, platyspondylie

#### Résumé :

La dysplasie métatropique est une dysplasie spondylo-épi-métaphysaire très rare caractérisée chez le nourrisson et le petit enfant par un tronc long, des extrémités courtes et une légère dysmorphie crânio-faciale. Une cyphoscoliose sévère apparaît ensuite progressivement. Le diagnostic radiographique est basé sur la présence d'une platyspondylie, de métaphyses élargies et de petites épiphyses. Elle est causée par des mutations, survenant habituellement de novo, au sein du gène TRPV4 qui code une protéine ayant un rôle de canal calcique. La présentation anténatale de cette pathologie est encore mal connue. Un seul cas de diagnostic anténatal a été rapporté à ce jour.

Nous présentons une observation fœtale de dysplasie métatropique pour laquelle le diagnostic a été évoqué en anténatal. L'échographie à 24 SA a mis en évidence une brièveté des os longs avec élargissement métaphysaire. A 26 ½ SA existait en outre un aspect d'incurvation fémorale, une ensellure nasale marquée avec un front bombant. Le scanner osseux 3D à 28 SA a confirmé l'existence d'os longs courts, trapus avec des métaphyses très élargies, d'une pseudo-incurvation fémorale et a montré une platyspondylie marquée. Le diagnostic de dysplasie métatropique a été confirmé en post-mortem sur les radiographies et l'examen morphologique. Cette observation vient confirmer le fait que le diagnostic échographique anténatal de dysplasie métatropique est possible.

## DIAGNOSTIC PRÉNATAL, DIAGNOSTIC PRÉ-IMPLANTATOIRE

### #3100 : Un nouveau cas de discordance foeto-placentaire complexe (type VI).

#### Auteurs :

Maude GRELET (1), John BOUDJARANE (1), Julia Torrents (2), Alain POTIER (3), Chantal MISSIRIAN (1), Marie-Christine MANCA-PELLISSIER (1)

1. Département de génétique médicale, Hôpital des enfants de la Timone, Marseille, France
2. laboratoire d'anatomopathologie , Hôpital de la Timone, Marseille, France
3. , , Marseille, France

**Mots clefs** : diagnostic prénatal, isochromosome 18, monosomie 18p.

#### Résumé :

Nous rapportons le cas d'un diagnostic prénatal réalisé à 14 semaines d'aménorrhée chez une patiente de 36 ans, sans antécédent familial particulier, en raison d'un risque combiné de trisomie 21 du premier trimestre supérieur à 1/10 avec une clarté nucale mesurant 3.6 mm.

Le prélèvement des villosités choriales a permis de réaliser deux caryotypes :

1) un caryotype foetal par technique directe en 24 heures mettant en évidence l'existence d'un remaniement chromosomique déséquilibré à type d'isochromosome 18q [46,XX,i(18)(q10)] dans l'ensemble des 16 mitoses analysées, confirmé par technique de painting du chromosome 18.

2) un caryotype foetal après culture qui retrouve cette même anomalie dans 50% des 22 métaphases analysées, associée à une autre anomalie chromosomique à type de délétion du bras court d'un chromosome 18 dans l'autre moitié des métaphases [46,XX,i(18)(q10)(11)/46,XX,del(18)(p10)(11)] . Ce résultat a été confirmé par technique de FISH métagasique avec des sondes situées sur le bras court et le bras long du chromosome 18.

Un caryotype de contrôle est réalisé à partir d'un prélèvement de liquide amniotique à 17 semaines d'aménorrhée qui retrouve cette seule anomalie dans 100% des mitoses analysées [46,XX,del(18)(p10)].

Malgré l'absence d'anomalie morphologique fœtale à l'échographie, autre que l'augmentation de la clarté nucale, le couple a souhaité une interruption médicale de la grossesse qui a été acceptée en raison des conséquences de ces remaniements chromosomiques sur le développement psycho-moteur.

L'examen anatomopathologique fœtal retrouve un retard de croissance associé à une dysmorphie faciale et des pieds en piolet bilatéraux.

Les caryotypes sanguins parentaux s'avèrent normaux: cette anomalie complexe est survenue « de novo ».

Ce dossier nous permet de rediscuter de l'évolution différentielle des anomalies chromosomiques en fonction des tissus embryonnaires. Dans ce cas, nous émettons l'hypothèse que l'oeuf résultant de la fécondation d'un ovule et d'un spermatozoïde, était porteur de l'anomalie chromosomique impliquant la délétion du bras court d'un chromosome 18, qui au cours des divisions successives a donné la formation d'un isochromosome 18 cantonné aux cellules à l'origine du trophoblaste alors que l'anomalie initiale a persisté dans les cellules à l'origine du bouton embryonnaire.

## DIAGNOSTIC PRÉNATAL, DIAGNOSTIC PRÉ-IMPLANTATOIRE

**#3102 : Duplication intragénique du gène GPC3 détectée en CGH-array prénatale : diagnostic in utero d'un Syndrome de Simpson-Golabi-Behmel de type I.**

### Auteurs :

Camille LEROY (1), Céline DUPONT (1), Clarisse BAUMANN (2), Jonathan ROSENBLATT (3), Laurence PERRIN-SABOURIN (2), Marie-Pierre MOIZARD (4), Martine RAYNAUD (4), Jonathan LEVY (1), Laurence BOUFFARD (1), Séverine DRUNAT (5), Eva PIPIRAS (6), Brigitte BENZACKEN (6), Jean-François OURY (3), Anne-Claude TABEL (1)

1. Département de Génétique, UF de cytogénétique, Hôpital Robert Debré, PARIS, France
2. Département de Génétique, UF de génétique clinique, Hôpital Robert Debré, PARIS, France
3. Service de Gynécologie Obstétrique, Hôpital Robert Debré, PARIS, France
4. Service de Génétique, CHRU de Tours, TOURS, France
5. Département de Génétique, UF de génétique moléculaire, Hôpital Robert Debré, PARIS, France
6. Service d'histologie-cytologie et cytogénétique, biologie de la reproduction, Hôpital Jean Verdier, BONDY, France

**Mots clefs :** Diagnostic prénatal, ACPA, GPC3, Duplication, Simpson-Golabi-Behmel

### Résumé :

L'utilisation en routine de l'analyse chromosomique sur puce à ADN (ACPA) en anténatal permet le diagnostic d'environ 6 % d'anomalies dans le cadre de signes d'appel échographiques (SAE) à caryotype normal.

Nous rapportons le cas d'une patiente adressée au centre de diagnostic prénatal pour macrosomie, CIV conotruncale, néphromégalie avec hyperéchogénicité rénale, kyste interhémisphérique et aspect d'excès cutané chez un fœtus de sexe masculin.

Devant ces SAE, une analyse en CGH-array a été réalisée sur du liquide amniotique non cultivé (puce Agilent® 60K). Un remaniement complexe de la région Xq26.2 a été mis en évidence, caractérisé par 2 duplications d'environ 450 kb et 153 kb séparées par une région non dupliquée d'environ 97 kb (arr[hg19] Xq26.2(132,161,510-132,612,390x2,132,669,976-132,766,886x1,132,834,006-132,986,815x2)mat). La duplication proximale concernait trois gènes OMIM: *USP26*, *TFDP3* et *GPC4*. La distale consistait en une duplication intragénique du gène *GPC3* (duplication des exons 3 à 6). Ce remaniement a été confirmé par PCR quantitative (qPCR). L'analyse parentale a montré que ce remaniement était hérité de la mère, qui présentait elle-même une macrostomie, un prognathisme et une augmentation de l'alpha-foeto-protéine (AFP) sérique (4,5MoM).

Le diagnostic de Syndrome de Simpson Golabi Behmel (SGBS) a alors été évoqué et un conseil génétique réalisé. Le diagnostic clinique de SGBS a été confirmé en postnatal (macrosomie, CIV opérée, dysmorphie faciale avec macrostomie et macroglossie, plis cutanés nombreux, cryptorchidie, hypospadias, mégaurète refluant, syndactylie membraneuse 2-3 unilatérale de la main et splénomégalie). Le dosage de l'AFP à la naissance était extrêmement élevé (150000 ng/mL).

Nous rapportons ici un diagnostic *in utero* de SGBS porté grâce à l'ACPA. Le SGBS de type I est un syndrome d'excès de croissance lié à l'X caractérisé par une avance de croissance pré et postnatale, une macrocéphalie, une dysmorphie faciale caractéristique et des malformations viscérales et squelettiques. Le mécanisme moléculaire à l'origine de ce syndrome est lié à une haploinsuffisance du gène *GPC3*. Deux duplications de la région de *GPC3* associées à un SGBS ont été rapportées : il s'agit de duplications intragéniques, à l'origine d'une altération de la fonction protéique. Les mutations perte de fonction de *GPC4* ne sont pas associées au SGBS. Un seul cas de duplication de *GPC4* a été décrit.

Dans notre cas, la duplication intragénique du gène *GPC3* pourrait être associée à une perte de fonction de ce gène, à l'origine du SGBS dans cette famille. Des études génomiques et fonctionnelles du gène *GPC3* ont confirmé cette hypothèse (création d'un décalage de la phase de lecture, cf poster Moizard et al., CHU de Tours). La participation de la duplication du gène *GPC4* dans le phénotype reste quant à elle à établir. Ce cas illustre l'importance de confronter les données cliniques aux résultats d'ACPA et de l'analyse fine des duplications identifiées.

## DIAGNOSTIC PRÉNATAL, DIAGNOSTIC PRÉ- IMPLANTATOIRE

### #3104 : Diagnostic prénatal d'une trisomie 2 en mosaïque : discordance entre l'étude sur liquide amniotique natif et la culture

#### Auteurs :

Nathalie Marle (1), Anne-Laure Mosca-Boidron (1), Christel Thauvin (2), Thierry Rousseau (3), Daphné Lehalle (2), Julien Thévenon (4), Nolwenn Jean-Marçais (2), Nicole Laurent (5), Laurence Faivre (2), Patrick Callier (1)

1. Laboratoire de Génétique Chromosomique et Moléculaire, Plateau Technique de Biologie, CHU Dijon, Dijon, France
2. Centre de Génétique et Centre de Référence "Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs", Hôpital d'Enfants, CHU Dijon, Dijon, France
3. Pôle de Gynécologie-Obstétrique, CHU Dijon, Dijon, France
4. Centre de Génétique et Centre de Référence "Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs", Hôpital d'Enfants, CHU Dijon, Dijon, France
5. Laboratoire d'Anatomo-Pathologie, CHU Dijon, Dijon, France

**Mots clefs :** diagnostic prénatal, conseil génétique, trisomie 2 en mosaïque

#### Résumé :

Alors que la trisomie 2 en mosaïque sur villosités chorales concerne un prélèvement sur 2000, la découverte d'une trisomie 2 en mosaïque vraie sur prélèvement de liquide amniotique est un évènement rare. Son incidence est estimée à une amniocentèse sur 58 000. Nous rapportons le cas d'une patiente G2P1 âgée de 38 ans, ayant bénéficié d'un prélèvement de villosités chorales à 14 SA + 3 jours pour dépistage combiné du 1<sup>er</sup> trimestre à 1/196. Une trisomie 2 complète à l'état homogène chez un fœtus de sexe féminin a été mise en évidence à l'étude directe ainsi qu'après culture, en cytogénétique conventionnelle, avec confirmation du caractère homogène en hybridation *in situ* en fluorescence. Un prélèvement de liquide amniotique a été réalisé à 16 SA + 3 jours. Une étude FISH sur liquide amniotique natif (2 sources distinctes F1 et F2) a retrouvé la trisomie 2 à un taux non significatif (0,3% des amniocytes pour F1 et 1,2% pour F2). Cependant, après culture, 4 des 5 clones (technique *in situ*) issus de F1 et aucun des 9 clones issus de F2 présentaient la trisomie 2. De même, l'analyse FISH sur culture avec trypsination a mis en évidence une trisomie 2 sur 68,5% (source F1) et 63% (source F2) des noyaux étudiés. Une échographie morphologique réalisée à 18 SA + 6 jours a montré un fœtus eutrophe, sans malformation, ni anomalie placentaire. Après conseil génétique, la patiente a décliné la proposition de suivi échographique régulier et a demandé la réalisation d'une interruption médicale de grossesse.

Le conseil génétique associé à la découverte prénatale d'une trisomie 2 en mosaïque est délicat du fait de la rareté des cas rapportés, mais aussi des difficultés à déterminer dans quelle mesure la trisomie 2 affecte les cellules fœtales et pas seulement les cellules de l'amnios. L'étude du sang fœtal n'est pas recommandée car la trisomie n'a jamais été retrouvée sur ce tissu, même en cas d'atteinte fœtale avérée. De plus, il a été démontré qu'une trisomie autosomique au niveau des cellules de l'amnios, même isolée, constituait un facteur de mauvais pronostic pour le déroulement de la grossesse.

La revue de la littérature rapporte 19 cas de trisomie 2 en mosaïque sur prélèvement de liquide amniotique. Dans la majorité des cas, l'issue de grossesse est anormale. Un syndrome polymalformatif est noté dans 11 cas (dont 7 cas avec interruption médicale de grossesse et 2 naissances vivantes). Seules 4 grossesses ont abouti à la naissance d'un enfant de phénotype normal.

L'analyse exhaustive des différentes observations publiées et de notre cas (incluant les données cytogénétiques détaillées, le phénotype des enfants nés et l'étude fœtopathologique en cas d'interruption médicale de grossesse), a pour but de faciliter le conseil génétique en apportant des éléments à valeur pronostique.

## DIAGNOSTIC PRÉNATAL, DIAGNOSTIC PRÉ-IMPLANTATOIRE

**#3111 : Grossesse gémellaire obtenue après la réalisation d'un diagnostic pré-implantatoire pour le syndrome d'Aicardi-Goutières lié à des mutations du gène *TREX1*.**

### Auteurs :

Stéphanie Plaza (1), Victoria Viart (1), Aliya Ishmukhametova (1), Marjolaine Willems (2), Christine Coubes (2), Isabelle Creveaux (3), Pascale Hoffman (4), Tal Anahory (5), Samir Hamamah (6), Mireille Claustres (1), Anne Girardet (1)

1. Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHRU de Montpellier, Montpellier, France
2. Département de Génétique Clinique, CHRU de Montpellier, Montpellier, France
3. Service de Biochimie Médicale, CHU Clermont Ferrand, Clermont Ferrand, France
4. Service de Gynécologie Obstétrique, CHU André Michallon, Grenoble, France
5. Département de Gynécologie Obstétrique, CHRU de Montpellier, Montpellier, France
6. Département de Biologie de la Reproduction, CHRU de Montpellier, Montpellier, France

**Mots clefs :** Diagnostic pré-implantatoire, syndrome d'Aicardi-Goutières, *TREX1*

### Résumé :

Le syndrome d'Aicardi-Goutières (SAG) est une encéphalopathie sévère progressive rare d'apparition précoce caractérisée principalement par un arrêt du développement psychomoteur dans les 1<sup>ers</sup> mois de vie, une tétraplégie spastique, des mouvements anormaux et une microcéphalie acquise. La neuro-imagerie met en évidence des calcifications des noyaux gris centraux et des anomalies de la substance blanche. Le SAG est un syndrome majoritairement transmis sur un mode autosomique récessif avec une hétérogénéité génétique, associée à des mutations dans 7 gènes (*TREX1*, *RNASEH2A*, *RNASEH2B*, *RNASEH2C*, *SAMHD1*, *ADAR* et *IFIH1*). Il en résulte une hétérogénéité clinique inter- et intrafamiliale de la maladie. Des mutations du gène *TREX1* ont été identifiées chez environ 22% des patients. Celles-ci produisent des phénotypes particulièrement sévères au cours de la période néonatale et sont associées à un risque plus élevé (environ 33%) de mort précoce que les mutations dans les autres gènes impliqués dans le SAG.

Une première demande de diagnostic pré-implantatoire (DPI) nous a été adressée pour un couple non consanguin dont l'enfant présentait un SAG lié à des mutations dans le gène *TREX1*. Cet enfant était hétérozygote composite pour le variant récurrent c.341G > A (p.Arg114His) hérité de son père, et le variant c.667G > A (p.Ala223Thr) hérité de sa mère, localisés dans l'exon 1, unique exon codant du gène *TREX1*.

Nous avons développé et validé sur un grand nombre de cellules uniques (lymphocytes isolés des 2 membres du couple) un protocole de PCR multiplex permettant de co-amplifier l'exon 1 du gène *TREX1* et sept marqueurs microsatellites situés de part et d'autre du gène *TREX1*, à environ 1Mb pour minimiser les risques de recombinaison. Les deux mutations ont été simultanément mises en évidence en duplex par la technique de miniséquencage.

Deux cycles de DPI, un en 2013 et un en 2014, ont été réalisés chez ce couple et une grossesse gémellaire bi-choriale, bi-amniotique a été obtenue lors de la deuxième tentative : deux enfants sont nés, indemnes du syndrome d'Aicardi-Goutières. Ce diagnostic étant désormais au point dans le centre de DPI de Montpellier, toute nouvelle demande de DPI pour SAG lié à des mutations du gène *TREX1* pourra être prise en charge rapidement.

## DIAGNOSTIC PRÉNATAL, DIAGNOSTIC PRÉ-IMPLANTATOIRE

#3115 : Unravelling the causes of late malformation-free stillbirths using targeted panel gene screening

### Auteurs :

Jelena MARTINOVIC (1), Tanita Lehtonen (2), Aurore BONNIN (1), Pia Pohjola (3), Marie-Victoire Senat (4)

1. Unit of Embryo-Fetal Pathology, , University Paris Sud, Antoine Bécclère Hospital, AP-HP, Paris, France, Clamart, France

2. Department of Pathology, , Turku University, and Turku University Hospital, Turku, Finland, Turku, Finlande

3. , Modern Diagnostics Ltd, Turku, Finland, Turku, Finlande

4. Department of Obstetrics and Gynecology, , University Paris Sud, Bicêtre Hospital, AP-HP, Paris, , Kremlin-Bicetre, France

**Mots clefs** : foetus, stillbirth, NGS, panel, foetopathologie

### Résumé :

Despite the increasing knowledge on developmental disorders applied both in prenatal follow-up and fetopathological examination, a vast majority of late stillbirths remain with no definite diagnosis. Such a poor diagnostic achievement results in the lack of adequate genetic counselling to the already devastated families.

In order to invert this tendency, we tested four third-trimester non-macerated fetuses using Life Guard® Gene Panel. It consists of 64 genes associated or suggested to be involved in sudden death of fetus or infant. In one of these three cases we detected the presence of a heterozygous missense mutation in the *KCNE3* gene (potassium voltage-gated channel, Isk related family, member 3), associated to autosomal dominant Brugada syndrome type 6.

The hallmark of this hitherto postnatal condition with variable penetrance is arrhythmia due to conduction abnormalities with an elevation of ST-segment, leading to sudden deaths of the patients with structurally normal hearts.

To the best of our knowledge, we report the first fetus-patient carrying a heterozygous *KCNE3* mutation likely responsible for sudden intrauterine demise. A greater number of patients is necessary for establishing eventual genotype-phenotype correlations in new fetal pathologies such as Brugada syndrome.

More importantly, it remains clear that unravelling the mystery behind the malformation-free late stillbirths should benefit in the future, in addition to the careful pathological examination, from targeted panel gene testing.

## DIAGNOSTIC PRÉNATAL, DIAGNOSTIC PRÉ-IMPLANTATOIRE

#3135 : Cell-free DNA analysis in maternal blood: differences in estimates from different laboratories

### Auteurs :

Elisa Bevilacqua (1), Jani Jacques (1), Alexandra Letourneau (2), Teresa Cos Sanchez (3), Alexandra Benachi (2), Jean-Marc Costa (4)

1. Department of Obstetrics and Gynecology, University Hospital Brugmann, Université Libre de Bruxelles, Bruxelles, Belgique
2. Gynécologie-Obstétrique, Hôpital Antoine Bécclère, Clamart, France
3. Department of Obstetrics and Gynecology, University Hospital Brugmann, Université Libre de Bruxelles, Bruxelles, France
4. Département de Biologie Spécialisée et de Génétique, Laboratoire CERBA, Saint-Ouen l'Aumône, France

**Mots clefs :** Non invasive prenatal testing, NIPT, labs comparison

### Résumé :

**Objectives:** To evaluate the failure rate and the performance of cell-free DNA (cfDNA) testing performed by two laboratories using different methods for the analysis of cfDNA and to evaluate whether the reported fetal fraction measurement is interchangeable.

**Methods:** cfDNA testing was performed in 2276 pregnancies with the Harmony™ Prenatal Test and 793 pregnancies with the “Cerba test”, with available outcome. Failure rate was defined as a fetal fraction < 4% or because the results appeared atypical. Regression analysis was used to investigate the effect on test failure rate of maternal smoking status, method of conception, type of test performed, maternal weight and gestational age at test. To calculate performance, birth outcomes or karyotypes were the reference standard. Further, regression analysis was used to investigate the effect on fetal fraction rate of the same variables.

**Results:** Failure rate of the cfDNA test at first sampling was 1.4% (33/2276) with the Harmony™ Prenatal Test and 1.1% (9/793) with the “Cerba test”. Multivariable regression analysis demonstrated that significant independent predictors of test failure were maternal weight, conception by in-vitro fertilization and gestational age at test but not the type of test performed. In pregnancies with the Harmony™ Prenatal Test, in 35 of the 35 cases with trisomy 21, in 9 of the 10 cases with trisomy 18, and in 3 of the 4 cases with trisomy 13, the cfDNA test gave a high-risk result, and in three cases (0,1% of false positive) out of the 2227 normal fetuses. In pregnancies with the Cerba Test, in 69 of the 69 cases with trisomy 21, in 21 of the 23 cases with trisomy 18, and in 11 of the 11 cases with trisomy 13, the cfDNA test gave a positive result, and in three cases (0,4% of false positive) out of the 690 normal fetuses. Regression analysis demonstrated that significant independent predictors of fetal fraction value were type of test, maternal weight, conception by IVF and gestational age at test

**Conclusions:** In singleton pregnancies, comparison of cfDNA testing between these 2 laboratories showed similar failure rates and similar performance for screening for trisomies. Measurement of fetal fraction and the value reported is not interchangeable between these 2 laboratories.

## DIAGNOSTIC PRÉNATAL, DIAGNOSTIC PRÉ-IMPLANTATOIRE

**#3159 : Dépistage non invasif des trisomies 13, 18 et 21 dans la population de Polynésie Française : importance de la mesure de la fraction d'ADN fœtal plasmatique.**

### Auteurs :

Jean-Marc Costa (1), Christine Roy (2), Loriane Franchinard (3), Dominique Eyrolle-Guignot (4), Alexandra Letourneau (3), Pascale Kleinfinger (5), Laurence Lohmann (5), Alexandra Benachi (3), Etienne Beaumont (4)

1. Département de Biologie Spécialisée et de Génétique, Laboratoire CERBA, Saint-Ouen l'Aumône, France
2. Laboratoire de Biochimie, Centre Hospitalier Taaone, Papeete, France
3. Gynécologie-Obstétrique, Hôpital Antoine Béclère, Clamart, France
4. Maternité Obstétrique, Centre Hospitalier Taaone, Papeete, France
5. Département de Biologie Spécialisée et de Génétique, Laboratoire CERBA, Saint-Ouen l'Aumône, France

**Mots clefs :** Dépistage trisomie 21, cell-free DNA, Tahiti

### Résumé :

Le dépistage prénatal non invasif de la trisomie 21 fœtale (NIPT) est aujourd'hui recommandé par de nombreuses sociétés savantes internationales, ou moins chez les patientes à risque accru. En l'absence de biomarqueurs spécifiques, ce dépistage est réalisé par **analyse quantitative non spécifique** de l'ADN plasmatique, le plus souvent par séquençage massif en parallèle. La fraction d'ADN fœtal (FF) est donc un élément clé dans la performance du NIPT puisqu'une valeur trop basse peut en théorie conduire à un résultat faussement négatif. Parmi les différents facteurs pouvant influencer la FF plasmatique, certains relèvent des procédures pré-analytiques, d'autres sont d'ordre physio-pathologique tel que l'indice de masse corporelle.

Nous présentons ici d'une part les résultats des tests préalables de faisabilité du NIPT en Polynésie Française et du retour d'expérience pour cette population dont l'indice de masse corporelle est nettement différent de la population Métropolitaine.

Le test NIPT a été effectué selon la méthode décrite par Benachi et al. *Obstet Gynecol.* 2015 qui inclut la mesure de la fraction d'ADN fœtal plasmatique. Les échantillons sanguins de 40 patientes ont été traités pour partie sur site immédiatement après collection (J0) et pour partie après transfert en Métropole. Le délai moyen entre collection sanguine et congélation du plasma pour analyse était de 6 jours dans ce dernier cas (4-18). La valeur moyenne de la FF était respectivement de 9.8% (4-25,3) à J0 et de 9.6% (4-26,7) après transfert (différence statistiquement non significative et coefficient de corrélation  $R^2=0,914$ ). Tous les échantillons étaient négatifs et concordants pour les trisomies 13, 18 et 21.

Au total de juin 2014 à septembre 2015, 267 patientes à risque ont bénéficié d'un NIPT ainsi que 51 patientes à bas risque dont 43 dans le cadre d'une grossesse gémellaire. Les données démographiques des patientes sont les suivantes : âge maternel médian : 39 ans (17-46), terme médian au NIPT : 18.2SA (10.3-37.4) et indice de masse corporelle (IMC) médian : 29,1 (15,9-56,1) dont **45,5% des patientes ayant un IMC supérieur à 30**. La médiane des FF est de 9.7% (4-35.4). Ces données sont à comparer celles d'une population Métropolitaine pour laquelle l'IMC médian est de 23 (21-27), dont 16,3% des patientes ayant un IMC supérieur à 30, et une mesure de la FF de 11.0% au terme médian au NIPT de 15,1SA (étude SEHDA). Le résultat du NIPT est non exploitable pour 6 patientes au premier prélèvement (2,2%) dont 5 grossesses gémellaires en raison d'une FF insuffisante dont 4 ayant un IMC supérieur à 32.

L'ensemble de ces données souligne l'importance de la mesure de la fraction d'ADN fœtal pour la mise en place du dépistage NIPT dans des situations particulières telles que celles rencontrées dans la population de Polynésie Française. A ce stade, le test NIPT s'est révélé positif pour 5 patientes (4 trisomies 21 et une trisomie 13). Les performances globales du test seront présentées

## DIAGNOSTIC PRÉNATAL, DIAGNOSTIC PRÉ-IMPLANTATOIRE

**#3213 : Expansion de triplets du gène *FMR1* : transition somatique de taille entre prémutation et mutation complète au cours d'un diagnostic prénatal X Fragile.**

### Auteurs :

Véra Esteves-Vieira (1), Christophe Pécheux (1), Rafaëlle Bernard (1), Catherine Badens (1), Nicole Philip (1), Marie-Christine Péllissier (1), Perrine Malzac (1), Marie-Antoinette Voelckel (1), Annachiara De Sandre-Giovannoli (1)

1. Dpt de Génétique Médicale, Hôpital d'Enfants La Timone, Marseille, France

**Mots clefs :** FXS, DPN, transition somatique

### Résumé :

Le syndrome X fragile (FXS) représente la forme la plus fréquente de déficience intellectuelle d'origine génétique. Il est dû à une expansion aberrante de triplets CGG localisés dans la région 5' UTR du gène *FMR1* qui a lieu lors de la méiose féminine. Si le nombre de triplets CGG augmente au dessus de 200, le promoteur du gène est méthylé et la traduction du gène *FMR1* en protéine n'a pas lieu : il s'agit de la mutation complète (MC) responsable du syndrome. Notre laboratoire propose le diagnostic moléculaire du FXS et des syndromes apparentés (FXTAS, FXPOI) pour confirmation de diagnostic clinique, conseil génétique et diagnostic prénatal. Nous rapportons les résultats observés lors d'un diagnostic prénatal réalisé chez une patiente porteuse d'une MC. Une première exploration sur l'ADN foetal (foetus féminin) extrait des villosités chorales prélevées à 12 SA avait montré la présence de l'allèle normal paternel, de l'allèle normal maternel et de deux prémutations (PM) comptant 90 et 107 +/-3CGG en mosaïque de taille avec une MC. L'échantillon étant contaminé par l'ADN maternel, seule la transmission au foetus de l'allèle pathologique pouvait être confirmée (présence des PM absentes chez la mère). L'étude a donc été poursuivie par l'examen d'ADN extrait de cellules amniotiques mises en culture lors de ce premier prélèvement. La présence des deux PM isolées a été alors observée, en l'absence de contamination maternelle. Les guidelines récentes pour le diagnostic moléculaire X-Fragile (Biancalana *et al.*, 2014) font état d'une possible transition somatique au cours de la grossesse entre allèles prémutés (sur les villosités chorales, prélevées précocement) et mutation complète (sur liquide amniotique prélevé plus tardivement), bien qu'aucune discordance n'ait été rapportée dans le cas où les deux tissus ont été testés. Informée de cette possibilité et à cause du très faible nombre de cas rapportés de « régression » de MC à PM par transmission maternelle (e.g. : Malzac *et al.*, 1996), la patiente a souhaité obtenir une confirmation du génotype foetal par une seconde ponction de liquide amniotique, réalisée à 17 SA. L'étude de l'ADN foetal, extrait des cellules amniotiques cultivées à partir de ce prélèvement, non contaminé, a montré l'apparition d'une mutation complète en mosaïque de taille avec les prémutations. Ces résultats ont été obtenus par la méthode Amplide X (Kit Theradiag, marquage IVD/CE) et confirmés par Southern blot. Nous rapportons donc pour la première fois, à notre connaissance, l'observation d'une transition somatique de taille entre un allèle foetal prémuté, détecté à un stade précoce de la grossesse, et une mutation complète, détectée à un stade plus tardif. Ces résultats posent par ailleurs la question de la transmission méiotique d'une prémutation par une femme porteuse de mutation complète et de l'expansion post-zygotique, en mosaïque, du nombre de triplets CGG du gène *FMR1*.

## DIAGNOSTIC PRÉNATAL, DIAGNOSTIC PRÉ-IMPLANTATOIRE

### #3297 : Apport de l'Analyse Chromosomique par Puces à ADN (ACPA) dans le diagnostic des anomalies échographiques de pronostic incertain

#### Auteurs :

Elodie Schaerer (1), Céline Bordet (1), Cécile Prudhomme (2), Isabelle Marey (1), Sandra Whalen (2), Aurélia Jacqueline (1), Marie-Lorraine Monin (1), Solveig Heide (1), Marie-Amélie Rocchisani (2), Capucine Hyon (3), Nicole Joyé (3), Danièle Vauthier-Brouzes (4), Marc Dommergues (4), Odile Philippon (4), Jean-Pierre Siffroi (3), Jean-Marie Jouannic (5), Anne-Marie Darras (5), Carole Cacheux (5), Marie Le Meur (5), Claude Vibert-Guigue (4), Frédéric Richard (6), Jacky Nizard (7), Isabelle Melonio (4), Stéphanie Friszer (5), Sophie Delahaye (5), Anne-Florence Alix (8), Sophie Hourrier (8), Julie Akle (9), Julie Grevouffesquet (9), Fatiha Guennas (5), Bekmezian Anaïs (10), Thierry Harvey (10), Ferdinand Dhombres (5), Emeline Maisonneuve (5), Trabbia Aurora (11), Samia Soltane (12), Catherine Allouche (5), Marie-Laure Moutard (13), Thierry Billette de Villemeur (13), Catherine Garel (5), Sandra Chantot-Bastaraud (3), Delphine Héron (14)

1. UF de Génétique clinique, Groupe Hospitalier Pitié Salpêtrière, Paris, France
2. UF de Génétique clinique, Hôpital d'Enfants Armand Trousseau, Paris, France
3. Département de Génétique médicale, Hôpital d'Enfants Armand Trousseau, Paris, France
4. Service de Gynécologie Obstétrique, Groupe Hospitalier Pitié Salpêtrière, Paris, France
5. Service de Médecine foetale, Hôpital d'Enfants Armand Trousseau, Paris, France
6. Service de Gynécologie Obstétrique et Médecine de la reproduction, Hôpital Tenon, Paris, France
7. Service de Gynécologie Obstétrique, Groupe Hospitalier Pitié Salpêtrière, France, France
8. Maternité, Hôpital Pierre Rouquès Les Bluets, Paris, France
9. Service de Gynécologie Obstétrique, Centre Hospitalier Sud Francilien, Corbeil-Essonnes, France
10. Maternité, Groupe Hospitalier Diaconesses Croix Saint Simon, Paris, France
11. Maternité, Hôpitaux de Saint-Maurice, Saint Maurice, France
12. Service de Gynécologie Obstétrique, Centre Hospitalier Intercommunal de Villeneuve Saint Georges, Villeneuve-Saint-Georges, France
13. Service de Neuropédiatrie, Hôpital d'Enfants Armand Trousseau, Paris, France
14. UF de Génétique clinique, Groupe Hospitalier Pitié Salpêtrière, France, France

**Mots clefs :** ACPA, Prénatal, Conseil génétique

#### Résumé :

L'Analyse Chromosomique par Puces à ADN (ACPA) est un examen d'utilisation récente en prénatal, qui peut aider au diagnostic des anomalies échographiques. Nous présentons les résultats d'une série de 98 parturientes à qui cet examen a été proposé devant des anomalies échographiques de pronostic incertain, afin d'évaluer leur adhésion, la nature des diagnostics, et l'impact du résultat sur la décision de poursuivre ou non la grossesse.

**Population et méthode :** Entre juillet 2013 et septembre 2015, 98 examens en ACPA ont été proposés pour des fœtus présentant des anomalies échographiques avec caryotype normal, au sein du Centre Pluridisciplinaire de Diagnostic Prénatal de l'Est Parisien. Les puces utilisées étaient identiques à celles utilisées en constitutionnel avec une résolution de 50 à 100 kb. Les parturientes ont toutes été adressées par les obstétriciens référents en consultation de génétique avant l'examen, pour en préciser les enjeux. Les indications étaient les suivantes : hyperclarté nucale ou hygroma, retard de croissance intra-utérin (RCIU) ou petit pour l'âge gestationnel (PAG) isolé, malformation cérébrale isolée, malformation viscérale isolée, anomalies multiples. Le terme moyen au moment de la proposition de l'examen était de 26 SA.

**Résultats :** 27 parturientes n'ont pas souhaité réaliser l'examen, soit parce que leur décision était déjà prise, soit parce qu'un nouveau prélèvement était nécessaire et non souhaité car le terme était trop avancé. 68 ACPA ont été réalisées avec un terme moyen au moment du rendu des résultats de 29 SA. 5 diagnostics ont été posés, tous dans le groupe RCIU/PAG. Parmi les diagnostics, 3 ont permis aux femmes de prendre une décision : 1 a permis d'expliquer le RCIU et de donner un pronostic plutôt rassurant (disomie uniparentale du chromosome 16) et 2 autres ont entraîné une interruption médicale de la grossesse (IMG), (délétion 15q26.1q26.3 de 11,2 Mb et duplication 22q11 de 6 Mb, de novo). Dans les 2 autres cas, le diagnostic n'a pas impacté la décision du couple : poursuite de la grossesse malgré une délétion 2qter de 1,9Mb, et décision d'IMG suite à la mise en évidence d'une anomalie cérébelleuse associée au RCIU, avant le résultat (délétion de 62kb du gène CASK).

**Discussion :** Notre étude permet de confirmer l'intérêt de l'ACPA pour le diagnostic des anomalies échographiques, en particulier dans les RCIU (33,3% de diagnostic) où les étiologies sont très hétérogènes. Le pourcentage global d'anomalies identifiées (7,3%) est en dessous de certains chiffres de la littérature du fait d'un biais de recrutement (signes d'appel à pronostic incertain). Le choix de la technique utilisée a permis (i) de limiter

le nombre de « Variants of Unknown signification » et d' « incidental findings », et (ii) la possibilité d'identifier une disomie uniparentale et une anomalie monogénique. Cette étude montre également que, lorsque le choix est donné, 27,5% des femmes décident de ne pas faire l'examen en cours de grossesse.

## DIAGNOSTIC PRÉNATAL, DIAGNOSTIC PRÉ-IMPLANTATOIRE

**#3321 : Diagnostic pré-implantatoire pour les maladies dont les gènes sont situés en Xq28 : développement d'un protocole unique**

### Auteurs :

Aliya Ishmukhametova (1), Victoria Viart (1), Stéphanie Plaza (1), Garance Verriere (1), Florielle Saguet (1), Marjolaine Willems (2), Tal Anahory (3), Samir Hamamah (4), Christine Coubes (2), Mireille Claustres (1), Anne Girardet (1)

1. Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHRU de Montpellier, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
2. Département de Génétique Clinique, CHRU de Montpellier, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
3. Département de Gynécologie Obstétrique, CHRU de Montpellier, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
4. Département de Biologie de la Reproduction et du Développement, CHRU de Montpellier, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France

**Mots clefs :** Diagnostic pré-implantatoire, maladies génétiques liées à l'X, Xq28

### Résumé :

Les maladies génétiques liées à l'X ont été l'une des premières indications de diagnostic pré-implantatoire (DPI), basé pendant plusieurs années sur un diagnostic « de sexe » des embryons. La limite principale de ce type de diagnostic était que seuls les embryons XX étaient transférés alors que la moitié des embryons XY étaient indemnes. Grâce à l'amélioration des techniques d'analyse de l'ADN unicellulaire, l'association de l'étude directe des mutations causales et d'une étude indirecte par analyse de marqueurs microsatellites proches des gènes d'intérêt est devenue la technique de référence dans le DPI des maladies monogéniques.

A l'heure actuelle, plus de 210 gènes ont été cartographiés dans l'intervalle terminal Xq28 de 8Mb, à ce jour, au moins 32 d'entre eux sont connus comme étant responsables de maladies génétiques. Depuis 2002, des demandes de DPI nous ont été adressées pour 49 couples à risque de transmettre une maladie liée à l'X, dont les gènes sont localisés en Xq28 sur une distance d'environ 1,3Mb : hémophilie A (gène *F8*, n=31 couples), adrénoleucodystrophie (gène *ABCD1*, n=5 couples), hydrocéphalie (gène *L1CAM*, n=6 couples), dystrophie musculaire d'Emery-Dreifuss (gène *EMD*, n=1 couple), incontinentia pigmenti (gène *NEMO/IKBK*, n=4 couples), dyskératose congénitale (gène *DKC1*, n=1 couple), syndrome des gènes contigus (duplication du gène *MECP2*, n=1).

Nous avons développé un protocole unique et robuste de PCR unicellulaire multiplex permettant d'étudier simultanément 15 marqueurs microsatellites dans cette région en association avec des marqueurs du chromosome Y. Par ailleurs 8 marqueurs supplémentaires peuvent être intégrés à ce protocole en fonction de l'informativité des familles. Dans le cas de mutations ponctuelles, l'étude directe de la mutation est réalisée par le technique de miniséquençage.

Sur les 49 demandes de DPI, une étude de faisabilité génétique pré-DPI a été réalisée pour 25 couples et 19 cycles de DPI ont été réalisés pour 15 d'entre eux. Au total, 9 grossesses cliniques ont été obtenues : 6 bébés sont nés et trois grossesses sont actuellement en cours.

Le protocole que nous avons développé nous permet désormais de prendre en charge rapidement toute nouvelle demande de DPI pour une maladie génétique dont le gène est situé en Xq28.

## DIAGNOSTIC PRÉNATAL, DIAGNOSTIC PRÉ-IMPLANTATOIRE

**#3323 : Un risque de faux-positif d'amyotrophie spinale infantile évité pour un couple pris en charge en DPI.**

### Auteurs :

Gaëlle THIERRY (1), Xénia MARTIN (1), Sophie PEDRONNO (1), Amélie ROCHER-MONNIER (1), Anne-Laure BAUDUIN (1), Aurélien GAUTEUL (1), Stéphane BEZIEAU (1), Kamran MORADKHANI (1), Claire BENETEAU (1), Paul BARRIERE (2), Sébastien SCHMITT (1), Cédric LE CAIGNEC (1)

1. Service de Génétique Médicale, CHU de Nantes, NANTES, France
2. Biologie et médecine de la reproduction, CHU de Nantes, NANTES, France

**Mots clefs :** DPI, Amyotrophie Spinale Infantile, Polymorphisme, faux-positif

### Résumé :

L'amyotrophie spinale infantile peut se manifester dès les premières semaines de vie par une faiblesse musculaire sévère progressive et une hypotonie due à la dégénérescence des motoneurons antérieurs de la moëlle épinière et des noyaux du tronc cérébral. Les patients acquièrent rarement la station assise et la marche. Le décès survient généralement dans les premières années de vie. Cette maladie génétique à transmission autosomique récessive est une indication fréquente de diagnostic préimplantatoire (DPI). Dans la majorité des cas, les personnes atteintes portent une délétion homozygote du gène *SMN1* (5q12.2-q13) codant la protéine de survie du motoneurone (SMN). Le plus souvent, les parents de l'enfant atteint sont chacun porteurs d'une délétion hétérozygote de *SMN1*.

Le gène *SMN2* (5q13.2) est un pseudogène, homologue de *SMN1*, non fonctionnel et leurs séquences ne diffèrent que de 5 nucléotides. Pour le DPI, en plus de l'analyse indirecte, nous réalisons l'analyse directe par PCR puis Snapshot sur un de ces nucléotides variables entre *SMN1* et *SMN2* localisé dans l'exon 7. Cela nous permet de connaître le nombre de copies de *SMN1* présentes chez les embryons.

Lors de la mise au point du DPI, nous confirmons le statut des parents sur ADN génomique par SnapShot en parallèle de l'haplotype, puis nous testons le protocole sur cellules uniques en utilisant les lymphocytes parentaux isolés les uns des autres.

Dans le cas rapporté ici, la confirmation du statut hétérozygote pour la délétion *SMN1* des parents a pu être faite sur ADN génomique, bien que le signal pour la copie restante de *SMN1* soit faible chez le père. Par contre, aucune amplification de *SMN1* n'a pu être obtenue sur l'ensemble de ses lymphocytes isolés testés.

Aucun polymorphisme n'est référencé dans nos amorces de PCR habituellement utilisées pour l'analyse directe de *SMN1*. Nous avons tout de même choisi un autre couple d'amorces nous permettant de séquencer la région chez ce patient et nous avons retrouvé un variant au milieu de l'amorce sens utilisée dans notre protocole. En utilisant ce nouveau couple d'amorces sur cellules uniques, nous avons pu confirmer la présence de la copie restante de *SMN1* chez ce patient.

Si nous n'avions pas réalisé la mise au point sur cellules uniques sur les lymphocytes isolés du père, nous n'aurions pas mis en évidence ce polymorphisme. Chez les embryons qui auraient hérité de ce polymorphisme, nous aurions eu une discordance entre l'haplotype (chromosome paternel normal, porteur d'une copie de *SMN1*) et l'analyse directe (absence de *SMN1* paternel). Dans le cas où l'embryon aurait reçu l'allèle délété maternel, nous aurions pu conclure, sur le direct, à une absence de *SMN1* et donc rendre l'embryon atteint.

Ce cas particulier souligne la nécessité de tester les protocoles utilisés pour les DPI sur cellules uniques des futurs parents.

## DIAGNOSTIC PRÉNATAL, DIAGNOSTIC PRÉ-IMPLANTATOIRE

**#3331 : Analyse de l'ADN fœtal circulant par séquençage massif en parallèle: doit-on dépister les trisomies 13 et 18 ? Retour d'expérience après deux ans d'activité.**

### Auteurs :

Laurence Lohmann (1), Pascale Kleinfinger (1), Alexandra Letourneau (2), Jean-Marie Jouannic (3), Marie-Pierre Bréchar (4), Philippe de Mas (5), Olivia Anselem (6), Etienne Beaumont (7), Romain Favre (8), Laurent Bidat (9), Tanguy Martin Denavit (10), Françoise Guis (11), Elizabeth Simon (12), Géraldine Viot (13), Marie-Victoire Sénat (14), Claudine Touboul (15), Dominique Eyrolle-Guignot (7), Alexandra Benachi (2), Jean-Marc Costa (16)

1. Département de Biologie Spécialisée et de Génétique, Laboratoire CERBA, Saint-Ouen l'Aumône, France
2. Gynécologie-Obstétrique, Hôpital Antoine Bécclère, Clamart, France
3. Gynécologie-Obstétrique, Hôpital Armand-Trousseau, Paris, France
4. Laboratoire de cytogénétique, Hôpital Saint-Joseph, Marseille, France
5. Laboratoire de biologie clinique, Département de génétique, Clinique St Jean Languedoc, Toulouse, France
6. Gynécologie-Obstétrique, Hôpital Cochin, Paris, France
7. Maternité Obstétrique, Centre Hospitalier Taaone, Papeete, France
8. Gynécologie-Obstétrique, SIHCUS-CMCO, Schiltigheim, France
9. Gynécologie-Obstétrique, Centre Hospitalier René Dubos, Pontoise, France
10. Département de Cytogénétique, Laboratoire Alpigene, Lyon, France
11. Département Mère-Enfant, Institut Mutualiste Montsouris, Paris, France
12. Unité de Diagnostic Prénatal, Fondation Lenval, Nice, France
13. Centre de Diagnostic Prénatal, Hôpital Américain de Paris, Neuilly-sur-Seine, France
14. Gynécologie-Obstétrique, Hôpital Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France
15. Gynécologie-Obstétrique, Centre Hospitalier Intercommunal, Créteil, France
16. Département de Biologie Spécialisée et de Génétique, Laboratoire CERBA, Saint-Ouen l'Aumône, France

**Mots clefs :** Dépistage non invasif, trisomie 13, trisomie 18, valeur prédictive positive

### Résumé :

Le dépistage prénatal non invasif de la trisomie 21 fœtale (NIPT) par analyse de l'ADN fœtal circulant est aujourd'hui recommandé par de nombreuses sociétés savantes internationales, ou moins chez les patientes à risque accru. L'extension de ce dépistage à d'autres aneuploïdies autosomales fréquentes (trisomie 13 et 18), syndromes microdélétionnels ou au génome complet est de plus en plus souvent proposée par certains laboratoires.

Nous rapportons ici l'expérience du test NIPT développé par notre laboratoire, pour lequel seuls sont communiqués les résultats portant sur les chromosomes 13, 18 et 21. Ce test est appliqué depuis novembre 2013, principalement à une population appartenant à un groupe à risque accru d'aneuploïdie mais toujours en l'absence de signe d'appel échographique et/ou d'hyperclarté nucale chez le fœtus. Le résultat s'est avéré positif pour 181 patientes (grossesse singleton : 172, grossesse gémellaire : 9), soit pour la trisomie 21 (n=146) ou pour les trisomies 18 (n=21) et 13 (n=14).

A ce jour, la confirmation par analyse du caryotype fœtal est connue pour 99 patientes. Les valeurs prédictives positives (VPP) observées sont de 97,4% (75/77), 61,5% (8/13) et 44,4% (4/9) pour les trisomies 21, 18 et 13 respectivement. Concernant, les résultats faussement positifs pour la trisomie 21, les Z-scores, même s'ils ne sont pas élevés, ne permettent pas pour autant de prédire formellement ce résultat (4,69 et 7,46 respectivement). De même pour les trisomies 13 et 18, les Z-scores entre les deux groupes « vrai positif » et « faux positif » diffèrent : médianes respectives à 19,5 vs 15,9 pour la trisomie 18, et 22,4 vs 12,2 pour la trisomie 13. Toutefois, l'effectif est trop faible actuellement pour entre tirer des conclusions statistiquement significatives.

L'ensemble de ces données souligne l'importance du contrôle d'un test NIPT positif par analyse du caryotype fœtal, idéalement après ponction de liquide amniotique. Ceci est particulièrement vrai pour les trisomies 13 et 18. Néanmoins, le dépistage des trisomies 13 et 18 faisant déjà l'objet d'un calcul de risque soit à travers le dépistage par les marqueurs sériques soit à travers des données échographiques et maternelles, il nous semble légitime d'intégrer ces anomalies dans un test NIPT des aneuploïdies. Même si les VPP sont ici nettement inférieures à celle observée pour la trisomie 21, elles restent supérieures aux autres méthodes de dépistage en l'absence de signes échographiques évocateurs. Par ailleurs, c'est l'opportunité de dépister précocément ces anomalies au premier trimestre. En revanche, l'extension NIPT à d'autres anomalies chromosomiques souligne

toute l'importance de la bonne compréhension du corps médical des limites des tests « NIPT plus » et de la nécessaire information délivrée aux patientes, avant et après obtention du résultat, particulièrement en cas de résultat positif.

## DIAGNOSTIC PRÉNATAL, DIAGNOSTIC PRÉ-IMPLANTATOIRE

#3335 : Diagnostic prénatal échographique d'acrodysostose : à propos d'une observation.

### Auteurs :

Viviane HIMILY (1), Agnès LINGLART (2), Franck PERROTIN (3), Jérôme POTIN (3), Annick TOUTAIN (1)

1. génétique, CHU Bretonneau , TOURS, France
2. endocrinologie et diabétologie de l'enfant, Hopital Bicêtre, PARIS, France
3. Médecine Foetale, CHU Bretonneau , TOURS, France

**Mots clefs :** acrodysostose, gène PRKAR1A, diagnostic prénatal échographique.

### Résumé :

L'acrodysostose est une maladie osseuse constitutionnelle rare, de transmission autosomique dominante, liée à des mutations des gènes PRKAR1A et PDE4A. Elle est responsable d'une dysostose de la face et des extrémités, et d'une petite taille entre -3 et -5DS à l'âge adulte. Les patients porteurs d'une mutation de PRKAR1A présentent en outre une résistance à la PTH associée éventuellement à d'autres résistances hormonales.

Nous présentons un cas de diagnostic prénatal échographique d'acrodysostose chez une patiente atteinte de la maladie avec une mutation de PRKAR1A (p.Arg368\*). Le diagnostic chez cette patiente a été posé dans la petite enfance. A l'âge adulte elle présente une petite taille (143,5 cm), des brachydactylies avec brachymétacarpie et brachymétatarsie, un visage plat et une résistance à la PTH, à l'adrénaline et une résistance partielle aux gonadotropines. Elle a débuté une grossesse spontanée. La transmission de l'anomalie moléculaire a été suspectée dès 12 SA en raison de signes d'appel échographiques. L'existence d'une hyperclarté nucale a motivé à 13 SA un prélèvement de villosités chorales pour étude du caryotype (résultat normal 46, XY). Une brièveté des extrémités visible dès ce stade de la grossesse a été retrouvée lors des examens échographiques ultérieurs, ainsi qu'une brièveté des os longs des membres s'accroissant progressivement et un profil plat avec un philtrum long. Le diagnostic d'acrodysostose a été confirmé en post-natal par l'examen du nouveau-né. Cette observation fait discuter la valeur de l'hyperclarté nucale dans le diagnostic prénatal des maladies osseuses constitutionnelles et suggère que le diagnostic prénatal échographique d'acrodysostose est possible.

## DIAGNOSTIC PRÉNATAL, DIAGNOSTIC PRÉ-IMPLANTATOIRE

**#3339 : Analyse de l'ADN libre circulant dans le plasma pour la détection d'anomalies chromosomiques déséquilibrées autres que les principales aneuploïdies ou les syndromes microdélétionnels : une étude de faisabilité.**

### Auteurs :

Pascale Kleinfinger (1), Laurence Lohmann (1), Alexandra Letourneau (2), Florence Amblard (3), Anne Bazin (1), Laurent Bidat (4), Marie-Pierre Brechard (5), Agnes Choiset (6), Berengere De Martinville (7), Véronique Debarge (8), Françoise Devillard (3), E Ginglinger (9), Marie-Christine Manca Pellisier (10), Véronique Satre (3), Detlef Trost (11), Alexandra Benachi (2), Jean-Marc Costa (1)

1. Service de génétique, Laboratoire Cerba, Saint-Oeun l'Aumône, France
2. Maternité, Hôpital Antoine Bécclère, Clamart, France
3. Laboratoire de cytogénétique, CHU Grenoble, Grenoble, France
4. Maternité, CH René Dubos, Pontoise, France
5. Laboratoire de cytogénétique, Fondation Hôpital Saint Joseph, Marseille, France
6. Laboratoire de cytogénétique, Hôpital Cochin, Paris, France
7. Service de cytogénétique, Hôpital Jeanne de Flandre, Lille, France
8. Maternité, Hôpital Jeanne de Flandre, Lille, France
9. Génétique médicale, CH Mulhouse, Mulhouse, France
10. Laboratoire de cytogénétique, Hôpital Timone Enfants, Marseille, France
11. Laboratoire de cytogénétique, Laboratoire Cerba, Saint-Oeun l'Aumône, France

**Mots clefs :** DPNI, CfDNA, anomalie chromosomique déséquilibrée

### Résumé :

L'ADN foetal libre circulant (CfDNA) est utilisé pour la détection des principales aneuploïdies et le dépistage de certains syndromes microdélétionnels.

Nous rapportons ici la première étude apportant la preuve de la faisabilité du dépistage non invasif par cette technique (DPNI) des anomalies chromosomiques déséquilibrées autres (ACDA) qu'une trisomie 13, 18 ou 21, une anomalie du nombre des gonosomes, une triploïdie, une anomalie de l'hétérochromatine ou un syndrome microdélétionnel récurrent.

### Matériels et méthode

Une étude multicentrique non interventionnelle a été réalisée de décembre 2014 à octobre 2015. Le CfDNA est analysé par MPS dans le plasma maternel en utilisant une approche « whole genome ».

Deux cent cinquante-quatre fœtus ont été étudiés en comparant les résultats du DPNI aux résultats du caryotype conventionnel. Parmi eux, 35 présentaient une ACDA.

Une deuxième étude, rétrospective, chez des patientes ayant bénéficié d'un dépistage primaire de trisomie 21 foetale par DPNI, est prévue.

### Résultats

Lors de cette première étude, le test est non interprétable dans 1,8% des cas. La sensibilité est de 88,2% et la spécificité de 99,1%. Les résultats seront présentés.

Discussion :

Cette étude permet de conclure à la faisabilité de la mise en évidence d'une anomalie chromosomique déséquilibrée par étude de CfDNA dans le plasma maternel.

La sensibilité de 88% ne permet pas la mise en place de ce test en cas de risque élevé d'anomalie chromosomique déséquilibrée, en particulier en cas de signes d'appels échographiques.

En revanche, dans la population générale, si la prévalence de ces anomalies peut être évaluée autour de 1/1000, ce test aurait une VPP de 10%, ce qui en fait un des meilleurs tests actuellement disponibles des ACAD, permettant un diagnostic prénatal d'un plus grand nombre de cas et plus précoce que ne le permet l'échographie seule.

Pour les couples porteurs d'une anomalie équilibrée, l'utilisation de ce test devra être discutée au cas par cas, selon la taille du déséquilibre recherché et de l'histoire obstétricale singulière du couple.

## DIAGNOSTIC PRÉNATAL, DIAGNOSTIC PRÉ-IMPLANTATOIRE

### #3357 : Performance of non-invasive prenatal determination of fetal RHD genotype in the first trimester of pregnancy using a single exon real-time polymerase chain reaction

#### Auteurs :

Alexandre Vivanti (1), Alexandra Benachi (1), François-Xavier Huchet (2), Yves Ville (3), Henri Cohen (4), Jean-Marc Costa (5)

1. Gynécologie-Obstétrique, Hôpital Antoine Bécclère, Clamart, France
2. Laboratoire de Biologie Médicale, Institut Mutualiste Montsouris, Paris, France
3. Service de Gynécologie-Obstétrique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
4. Département Mère-Enfant, Institut Mutualiste Montsouris, Paris, France
5. Département de Biologie Spécialisée et de Génétique, Laboratoire CERBA, Saint-Ouen l'Aumône, France

**Mots clefs :** Cell-free DNA, rhesus D genotype, non invasive prenatal diagnosis

#### Résumé :

##### Background

Non-invasive rhesus D (RHD) genotyping, one mainstream application, has permitted a revolution in the diagnosis of RhD status for RhD-negative women.

##### Objective

To assess the performance of non-invasive prenatal determination of fetal RHD genotype in the first trimester of pregnancy using a single exon real-time polymerase chain reaction assay.

##### Study design

Retrospective observational multicenter study. Four hundred and sixteen RhD-negative pregnant women were retrospectively enrolled in five departments of obstetrics in the Paris area, France. All blood samples were obtained between 10 and 14 weeks of gestation (WG) during a routine consultation or a specific consultation of prenatal diagnosis in relation to a prior RhD immunization. The presence of RHD sequence was determined by RT-PCR (amplification of exon 10). Results were compared with RhD phenotypes obtained by cord blood sampling of neonates.

##### Results

In the 416 RhD negative women tested for fetal RhD status, the mean gestational age at blood sampling was 13.1 ( $\pm 1.0$ ). Twenty-five procedures (6.0%) were done between 10 and 11 WG. Most of women (89.4%) were tested for a systematic screening, 22 (5.3%) prior to an invasive procedure and 17 (4.1%) because of an existing RhD immunization. Forty-eight (11.5%) women had an African or a Caribbean origin. The neonatal RhD status was negative in 162 (38.9%) cases and positive in 254 (61.1%) cases. Among the 416 women tested, the RhD status of the fetus was inconclusive in 9 (2.2%) cases. Fetal RhD status has been conclusive for 407 (97.8%) maternal sera: 259 non-invasive assays (63.6%) were positive and 148 (36.4%) were negative. All sera from women carrying a RhD positive fetus ( $n=252$ ) gave positive results for RHD gene detection when conclusive. Seven sera from women carrying a RhD-negative fetus gave positive results for RHD gene detection. None of the RhD-positive fetus gave negative results for RHD gene detection. The overall sensitivity and specificity of the test were respectively 100% (95% CI 96.9-100.0) and 95.2% (95% CI 90.5-97.6). In our cohort, the negative and positive predictive values were respectively 99.8% (95% CI 94.9-100.0) and 97.1% (95% CI 94.2-98.6).

**Conclusion:** Non-invasive fetal RhD determination by a single exon RT-PCR during the first trimester of pregnancy has a high level of accuracy.

## DIAGNOSTIC PRÉNATAL, DIAGNOSTIC PRÉ-IMPLANTATOIRE

### #3528 : La médecine personnalisée de la reproduction : besoins et points de vue de femmes enceintes Québécoises

#### Auteurs :

Gabrielle Lapointe (1), Régen Drouin (2), Chantal Bouffard (1)

1. Département de Pédiatrie, Université de Sherbrooke, Sherbrooke, Canada
2. Département de Pédiatrie, Université Laval, Québec, Canada

**Mots clefs :** Médecine personnalisée, recherche qualitative, médecine prénatale, femmes enceintes, besoins, points de vue

#### Résumé :

À l'heure actuelle, de puissants outils pan-génomiques investissent le secteur de la reproduction, remplaçant graduellement les tests conventionnels, donnant ainsi naissance à ce que nous appelons la médecine personnalisée de la reproduction (MPR). Ces techniques génèrent une quantité phénoménale d'informations sur le génome foetal. La MPR engagerait les parents dans une responsabilisation sans précédent face à la santé des enfants à naître. Ceci, combinée à l'explosion de l'information génétique, expose la MPR à plusieurs dérives. L'objectif de cette étude est de développer des connaissances permettant d'accompagner la pratique de la MPR de données empiriques sur les besoins des usagères, afin de développer des services de santé prénataux éthiques et responsables.

**MÉTHODE:** Devis qualitatif avec 15 femmes enceintes. Entrevues semi-dirigées abordant 5 thèmes, dont les suivants : **1)** expériences avec les tests prénataux, **2)** séance d'informations à propos des tests prénataux disponibles ou en voie de l'être et points de vue les concernant et **3)** points de vue sur la responsabilisation associée à la MPR. Les entrevues sont enregistrées, transcrites et analysées de façon inductive générale.

**RÉSULTATS:** La majorité des femmes enceintes rencontrées ont effectué le dépistage de la Trisomie 21 afin d'être rassurée et de voir le bébé. La désorganisation du service et le manque d'informations lors de l'échographie ont été des points négatifs soulevés par plusieurs participantes. Après la présentation des tests prénataux, si on leur en donnait l'occasion, la majorité des participantes choisiraient le diagnostic prénatal non-invasif avec cellules foetales comme test prénatal. Elles soulevaient toutefois que ce type de test devrait être fait avec l'accompagnement d'un professionnel de la santé. Aucune des participantes ne prendraient le risque de faire une amniocentèse dans le but d'en connaître d'avantage sur la santé du foetus, si on leur en donnait l'opportunité. L'ensemble des participantes était en mesure d'identifier des avantages et des inconvénients des tests présentés, ce qui démontre un niveau de compréhension adéquat. La responsabilisation associée à la MPR était trop lourde selon la plupart des participantes, mais aurait toutefois un côté positif en encourageant les femmes enceintes à avoir des comportements appropriés pendant la grossesse. L'ensemble des femmes enceintes rencontrées semblent réellement concernées par les tests prénataux et sont enclines à aller chercher de l'informations afin d'améliorer leurs connaissances.

**CONCLUSION :** Les femmes enceintes rencontrées apprécient être informées et sont tentées d'opter pour une nouvelle technologie sécuritaire leur permettant d'en connaître davantage sur la santé de leur enfant. Bien que les avancées technologiques leurs semblent opportunes, la majorité des participantes s'entendent pour dire que ces technologies doivent être utilisées à bon escient, sans en mettre trop sur les épaules des parents.

## DIAGNOSTIC PRÉNATAL, DIAGNOSTIC PRÉ-IMPLANTATOIRE

**#3534 : Dépistage non invasif des trisomies 13, 18 et 21 par analyse de l'ADN fœtal circulant en cas de grossesses multiples.**

### Auteurs :

Grégoire Le Conte (1), Alexandra Letourneau (1), Pascale Kleinfinger (2), Laurence Lohmann (2), Jean-Marie Jouannic (3), Marie-Pierre Bréchar (4), Philippe de Mas (5), Olivia Anselem (6), Etienne Beaumont (7), Claire Miry (8), Laurent Bidat (9), Tanguy Martin Denavit (10), Françoise Guis (11), Elizabeth Simon (12), Géraldine Viot (13), Claire Colmant (14), Alexandra Benachi (1), Jean-Marc Costa (15)

1. Gynécologie-Obstétrique, Hôpital Antoine Bécère, Clamart, France
2. Département de Biologie Spécialisée et de Génétique, Laboratoire CERBA, Saint-Ouen l'Aumône, France
3. Gynécologie-Obstétrique, Hôpital Armand-Trousseau, Paris, France
4. Laboratoire de cytogénétique, Hôpital Saint-Joseph, Marseille, France
5. Laboratoire de biologie clinique, Département de génétique, Clinique St Jean Languedoc, Toulouse, France
6. Gynécologie-Obstétrique, Hôpital Cochin, Paris, France
7. Maternité Obstétrique, Centre Hospitalier Taaone, Papeete, France
8. Gynécologie-Obstétrique, SIHCUS-CMCO, Strasbourg, France
9. Gynécologie-Obstétrique, Centre Hospitalier René Dubos, Pontoise, France
10. Département de Cytogénétique, Laboratoire Alpigene, Lyon, France
11. Département Mère-Enfant, Institut Mutualiste Montsouris, Paris, France
12. Unité de Diagnostic Prénatal, Fondation Lenval, Nice, France
13. Centre de Diagnostic Prénatal, Hôpital Américain de Paris, Neuilly-sur-Seine, France
14. Maternité Port-Royal, Hôpital Cochin, Paris, France
15. Département de Biologie Spécialisée et de Génétique, Laboratoire CERBA, Saint-Ouen l'Aumône, France

**Mots clefs :** ADN foetal circulant, dépistage trisomie 21, grossesse gémellaire

### Résumé :

Le dépistage de la trisomie 21 chez les patientes présentant une grossesse gémellaire repose sur la mesure de la clarté nucale de chaque embryon associée à l'âge de la mère. Le dépistage par les marqueurs sériques au premier trimestre n'est pas validé et au deuxième trimestre il n'est pas recommandé du fait de son manque de spécificité (10-15% des patientes sont classées à risque).

Le dépistage des aneuploïdies par l'analyse de l'ADN fœtal circulant dans le sang maternel (NIPT) a montré sa supériorité dans une population de patientes à haut et à bas risque (Bianchi et al. 2014, Norton et al. 2015). Les données de la littérature concernant les performances de ce test en cas de grossesse gémellaire sont peu nombreuses. Elles montrent que le test NIPT pour les trisomies 13, 18 et 21 est faisable mais au prix d'une augmentation du taux de non-rendus en partie en raison du mode d'évaluation de fraction fœtale.

Nous rapportons deux années d'expérience de test NIPT réalisé selon la méthode décrite par Benachi et al. (Obstet Gynecol. 2015) et appliqué aux grossesses multiples. Parmi les critères de validation du test la valeur de fraction d'ADN fœtal (FF) a été considérée comme suffisante lorsque supérieure 8% (vs 4% pour une grossesse singleton). Au total, 578 patientes ont opté pour un test NIPT soit en première intention, soit en raison d'un dépistage sérique à risque. Aucun test NIPT n'a été réalisé en cas d'anomalie fœtale à l'échographie, y compris hyperclarté nucale. Le terme médian était de 15.6 SA (10-30.2). La fraction fœtale médiane évaluée à 12.4% (5.3-30.2) et elle était inférieure à 8% pour 8.6% des patientes. Après second prélèvement (pour 10 patientes) le taux de non rendu était de 6.9%.

Les performances du test sont comparées soit au caryotype lorsqu'un prélèvement invasif a été réalisé soit à l'examen des enfants à la naissance. Pour 5 patientes le test NIPT était positif pour la trisomie 21, une patiente pour la trisomie 18 et une patiente pour la trisomie 13. Au total, seules 7 patientes soit 1,3%. Les résultats préliminaires portent sur 131 grossesses gémellaires, mono ou bichoriale, spontanée ou issue d'une assistance médicale à la procréation. Ces premiers résultats très prometteurs nécessitent d'être confirmés par la poursuite du recueil des issues de grossesse pour l'ensemble des 578 patientes.

## DIAGNOSTIC PRÉNATAL, DIAGNOSTIC PRÉ-IMPLANTATOIRE

**#3549 : Diagnostic prénatal des erreurs innées du métabolisme : expérience de 10 ans du service des maladies congénitales et héréditaires de l'hôpital Charles Nicolle.**

### Auteurs :

Rania Ben Mefteh (1), Ines Ouertani (2), Faouzi Maazoul (2), Rym Ben Abdelaziz (3), Héla Boudabous (3), Ben Chehida Amel (3), Hatem Azouz (3), Hadhemi Ben Turkia (3), Neji Tebib (3), Ridha Mrad (2), Rania Ben Mefteh (2)

1. Service des maladies congénitales et héréditaires, Hôpital Charles Nicolle, Tunis, Tunisie, Tunis, Tunisie
2. Service des maladies congénitales et héréditaires, Hôpital Charles Nicolle, tunis, Tunisie, Tunis, Tunisie
3. Service de pédiatrie et des maladies héréditaires du métabolisme, Hôpital La Rabta, Tunis, Tunisie, Tunis, Tunisie

**Mots clefs :** Erreurs innées du métabolisme, Diagnostic prénatal, Conseil génétique prénatal

### Résumé :

Diagnostic prénatal des erreurs innées du métabolisme : expérience de 10 ans du service des maladies congénitales et héréditaires de l'hôpital Charles Nicolle.

R.Ben Mefteh, I.Ouertani, F.Maazoul, R.Ben Abdelaziz\*, H.Boudabous\*, A.Ben Chehida\*, H.Azzouz\*, H.Ben Turkia\*, N.Tebib\*, R.Mrad

Service des maladies congénitales et héréditaires, EPS Charles Nicolle, Tunis, Tunisie

\*Service de pédiatrie et des maladies héréditaires du métabolisme, la Rabta, Tunis, Tunisie

### Introduction :

Les erreurs innées du métabolisme constituent un groupe hétérogène de maladies rares.

Le diagnostic prénatal peut être biochimique ou moléculaire et peut se faire sur différents tissus selon le terme de la grossesse (Trophoblaste entre la 11<sup>ème</sup> et la 13<sup>ème</sup> semaines d'aménorrhée, Liquide amniotique à partir de la 15<sup>ème</sup> semaine d'aménorrhée).

L'organisation de ces diagnostics prénataux dans notre service a fait l'objet de notre étude.

### Matériels et Méthodes :

Nous avons mené une étude descriptive, transversale et rétrospective portant sur 63 familles issues des différentes régions de la Tunisie et ayant bénéficié d'un diagnostic prénatal d'une erreur innée du métabolisme.

### Résultats :

Les principaux groupes de maladies ont été abordées (Les maladies d'intoxication, les déficits des voies du métabolisme énergétique et les déficits du métabolisme des molécules complexes).

76% de nos couples étaient apparentés de 1<sup>er</sup> degré. La majorité était originaire du Nord Est (31,7% des cas).

Le prélèvement était à type de liquide amniotique dans 60 cas (57 %) et de villosités chorionales dans 46 cas (43 %).

Les méthodes biochimiques étaient les plus fréquemment utilisées 61,3% des cas, suivies par les analyses moléculaires (31,2% des cas).

Le diagnostic des maladies dues à des erreurs de biosynthèse ou de dégradation des molécules complexes était le plus fréquemment réalisé en anténatal (55 diagnostics prénataux pour les maladies de surcharge lysosomale, le syndrome de Zellweger et le CDG syndrome Ia).

Une atteinte fœtale a été notée dans 30% des cas indiquant une interruption médicale de la grossesse. Une couverture sociale a été assurée pour 84,2% de nos couples.

### Conclusion :

Les diagnostics prénataux des erreurs innées du métabolisme ont un taux de réussite avec rendu du résultat de 100%.

Cette réussite est obtenue grâce à un réseau collaboratif bien rodé incluant différents spécialistes.

**Mots clés :** Erreurs innées du métabolisme, Diagnostic prénatal, Conseil génétique prénatal

## DIAGNOSTIC PRÉNATAL, DIAGNOSTIC PRÉ-IMPLANTATOIRE

**#3550 : Principales anomalies cytogénétiques fœtales : à propos d'une série Tunisienne de 182 cas sur une période 5 ans**

### Auteurs :

Leïla Dardour (1), Ines Ouertani (2), Ridha Mrad (2), Faouzi Maazoul (2), Molka Sebai (2)

1. service des maladies héréditaires et congénitales, EPS Charles Nicolle, Sousse, Tunisie
2. service des maladies héréditaires et congénitales, EPS Charles Nicolle, Tunis, Tunisie

**Mots clefs :** diagnostique prénatal, anomalies chromosomiques

### Résumé :

L'étude du caryotype fœtal est réservée aux grossesses à risque d'anomalie chromosomique. Les indications médicales du diagnostic prénatal sont bien déterminées. Nous rapportons dans ce travail les principales anomalies cytogénétiques diagnostiquées en prénatal dans notre service sur une période de cinq ans allant d'octobre 2010 à octobre 2015.

Les principales indications étaient l'âge maternel avancé (16/182), des marqueurs sériques élevés (13/182) et les signes d'appel échographiques (65/182).

Les anomalies chromosomiques les plus fréquemment rencontrées lors du diagnostic prénatal étaient les anomalies des autosomes. En effet, sur les 182 cas colligés, 79 fœtus avaient une trisomie 21: homogène chez 78 fœtus et en mosaïque chez 1 seul fœtus, libre chez 75 et par translocation chez quatre. La deuxième anomalie retrouvée était la trisomie 18 (45 cas), ensuite la trisomie 13 (14 cas) et la monosomie X (14 cas). Le syndrome de Klinefelter était diagnostiqué chez 6 cas. D'autres anomalies de nombre étaient retrouvées, il s'agissait de triploïdie (69,XXX ou 69,XXY) dans 4 cas, de marqueurs chromosomiques surnuméraires dans 5 cas, de trisomie de l'X (2 cas). Nous avons objectivé une seule fois une trisomie 9 et une trisomie 22.

Les anomalies de structure étaient moins fréquentes (11 cas), dont 11 étaient équilibrées. La moitié de ces anomalies étaient représentées par les translocations (6 cas) dont 3 Robertsoniennes.

Le diagnostic prénatal des anomalies chromosomiques retrouve généralement des anomalies connues avec un pronostic établi. Dans certains cas, des difficultés d'interprétation avec un phénotype imprévisible rendent le conseil génétique délicat.

## DIAGNOSTIC PRÉNATAL, DIAGNOSTIC PRÉ-IMPLANTATOIRE

### #3566 : Bilan d'activité du Diagnostic Préimplantatoire (DPI) du CHU de Nantes

#### Auteurs :

Jessica Le Gall (1), Anne-Laure Bauduin (2), Sophie Pedronno (2), Jenna Lammers (3), Amélie Rocher-Monnier (2), Aurelien Gauteul (2), Coralie Gonin-Flambois Olympiade (3), Sylvie Charron (3), Florence Leperlier (3), Thomas Freour (3), Carole Splingart (3), Paul Barriere (3), Cédric Le Caignec (2), Sébastien Schmitt (2), Claire Bénéteau (2), KAMRAN MORADKHANI (2), Gaëlle Thierry (2)

1. Service de Génétique Médicale, CHU de Nantes, Nantes, France
2. Service de Génétique Médicale, Laboratoire de DPI, CHU de Nantes, Nantes, France
3. Service de Biologie de la Reproduction, CHU de Nantes, Nantes, France

**Mots clefs :** Diagnostic préimplantatoire, DPI chromosomique, DPI des maladies monogéniques,

#### Résumé :

Le CHU de Nantes est le quatrième centre français à avoir obtenu l'agrément pour l'activité de Diagnostic Préimplantatoire. Concernant les indications cytogénétiques, nous prenons en charge les translocations réciproques ou robertsoniennes et les inversions quels que soient les chromosomes impliqués et certaines microdélétions ou microduplications. Les indications moléculaires de DPI, d'abord restreintes à la mucoviscidose, l'amyotrophie spinale infantile et à la dystrophie myotonique de Steinert, ont été étendues en octobre 2013 à toutes les pathologies recevables en DPI.

Le premier cycle de DPI réalisé à Nantes a eu lieu en juin 2013. Depuis, 394 demandes de DPI ont été étudiées (177 cytogénétiques, 217 moléculaires) et 284 acceptées (137 cytogénétiques, 147 moléculaires), 243 embryons ont été transférés (155 cytogénétiques, 88 moléculaires) donnant lieu à 52 grossesses cliniques (32 cytogénétiques, 20 moléculaires) et à la naissance de 17 enfants dont 2 paires de jumeaux. Vingt et une grossesses, dont 2 gémellaires, sont encore en cours.

Les couples pouvant bénéficier du DPI ne nous sont pas systématiquement adressés et cela est dû essentiellement à une idée reçue sur le délai d'attente jugé trop long par les couples et aussi par les praticiens de santé. Actuellement dans notre centre, le délai d'attente est en moyenne de 3 à 6 mois en DPI chromosomique et de 6 mois à un an, selon la pathologie, pour le DPI des maladies monogéniques. Toute demande de prise en charge par DPI doit être envoyée au centre du Diagnostic Pré-implantatoire du CHU de Nantes (Secrétaire Coordinatrice : Madame Sonia BLON joignable au 02.40.08.33.97).

---

# POSTERS

EPIGÉNÉTIQUE, INTERACTIONS GÈNES ENVIRONNEMENT

---

## EPIGÉNÉTIQUE, INTERACTIONS GÈNES ENVIRONNEMENT

**#2698 : Caractérisation comportementale standardisée de modèles murins de maladies génétiques avec des déficits intellectuels**

### Auteurs :

Hamid Meziane (1), Chaouki Bamhamed (2), Valérie Lalanne (2), Fabrice Riet (2), Mohamed Selloum (3), Thomas Arbogast (4), Aline Dubos (4), Arnaud Duchon (4), Marie-Christine Birling (5), Sophie Leblanc (6), Laurent Vasseur (6), Abdelkader Ayadi (7), Sylvie Jacquot (8), Gauillaume Pavlovic (5), Tania Sorg (9), Yann Hérault (10)

1. Neurobiologie & Comportement, Institut Clinique de la souris, ILLKIRCH, France
2. Neurobiologie & Comportement, Institut Clinique de la souris-Phenomin, ILLKIRCH, France
3. Project Management, Institut Clinique de la souris-Phenomin, ILLKIRCH, France
4. Neurobiologie, Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire, ILLKIRCH, France
5. Ingénierie Génétique, Institut Clinique de la souris-Phenomin, ILLKIRCH, France
6. Informatique, Institut Clinique de la souris-Phenomin, ILLKIRCH, France
7. Animalerie, Institut Clinique de la souris-Phenomin, ILLKIRCH, France
8. Génotypage, Institut Clinique de la souris-Phenomin, ILLKIRCH, France
9. Phénotypage, Institut Clinique de la souris-Phenomin, ILLKIRCH, France
10. Neurobiologie, Institut Clinique de la souris-Phenomin, ILLKIRCH, France

**Mots clefs :** Comportement, souris, déficits intellectuels, Gencodys

### Résumé :

GENCODYS is a European translational program aiming to identify new genes involved in cognitive dysfunctions, to elucidate molecular mechanisms underlying cognitive deficits, and to screen for potential therapeutics. One of the objectives of this program consists of neurological and behavioral phenotypic analysis of mouse models for intellectual disability (ID), focusing particularly on evaluation of cognitive dysfunction.

Around 40 mutant lines were generated and characterized, several mutations are *DE Novo* mutations. Standardized behavioral screen were carried out, including several tests allowing to evaluate a wide range of functions or their pathologies including circadian activity, neurological reflexes and specific motor abilities, anxiety-related behavior, sensorimotor gating or learning and memory processes. In some lines additional tests were performed to further characterize abnormalities observed or to extend phenotypic traits related to the individual genes.

A classification of mutated genes were drawn based on phenotypic traits. These data show heterogeneity of phenotypes between mutation types, recapitulating some of the human features, and suggesting thus the relevance of these mutants for better understanding human syndromes. Nevertheless, three main classes were identified based on activity phenotypes, to which other motor abilities or cognitive deficits were associated. Some of these mutants underwent pharmacological treatments to potentially reverse behavioral changes, and to screen for potential therapeutics.

A hitmap of behavioral phenotypes will be presented, together with selected mutant results, emphasizing the importance of such big programs for discovery/deciphering of genetic etiological causes of mental retardation and autism, and to build appropriate therapeutic strategies.

**#3553 : Transition épithélio-mésenchymateuse d'une lignée de carcinome mammaire triple-négatif sur matrice extra-cellulaire trisomique 21 in vitro**

**Auteurs :**

Gaëlle Salaun (1), Stéphan Kémény (1), Carole Goumy (1), Eleonore Eymard-Pierre (1), Céline Pebrel-Richard (2), Philippe Vago (1), Laetitia Gouas (1)

1. Cytogénétique Médicale, CHU Estaing, Clermont-Ferrand, France
2. Cytogénétique Médicale, CHU Estaing, clermont-Ferrand, France

**Mots clefs :** Cancer du sein triple-négatif, Transition épithélio-mésenchymateuse, Trisomie 21, matrice extra-cellulaire.

**Résumé :**

**Introduction :** Le cancer du sein triple-négatif est un cancer très invasif associé à un profil clinique défavorable chez les femmes jeunes, avec un haut risque de rechute métastatique précoce. La matrice extracellulaire (MEC), composant clé du microenvironnement stromal, intervient dans l'invasion locale des carcinomes initiée par la transition épithélio-mésenchymateuse (TEM) au cours de laquelle les cellules néoplasiques développent des propriétés mésenchymateuses et migratoires. Les facteurs microenvironnementaux modulant la TEM sont mal connus et la découverte de protéines matricielles capables de réprimer celle-ci pourrait permettre de prévenir la dissémination des cellules tumorales. Le profil tumoral des patients trisomiques 21 se caractérise par une faible incidence des cancers solides, dont le cancer du sein, et il a été montré que la MEC trisomique 21 (MEC-T21) présente une composition et une architecture particulière.

**Objectif :** Déterminer si la TEM d'une lignée de cellules épithéliales malignes triple-négatives est réprimée au contact d'une MEC-T21.

**Matériels et méthodes :** La MEC a été sécrétée *in vitro* sur une lamelle de culture par des fibroblastes euploïdes (MEC-Eup) et trisomiques 21 (MEC-T21). Après la lyse des fibroblastes, des cellules MDA-MB-468 ont été ensemencées et la TEM a été induite par du TGFalpha (50 ng/ml). La TEM a été évaluée en comptant le nombre de cellules devenues fusiformes (microscopie à fluorescence).

**Résultats :** La proportion moyenne de cellules ayant fait leur TEM était significativement plus élevée après induction par le TGFalpha que sans induction ( $p < 0,001$ ), quel que soit le support. Après 72h d'induction, il y eu significativement moins de cellules malignes ayant fait leur TEM sur une MEC-T21 que sur une MEC-Eup ou sur support lamelle ( $P < 0,001$ ). Sans induction, aucune différence significative n'a été observée entre les différents supports.

**Conclusion :** Ces résultats suggèrent que la MEC sécrétée par des fibroblastes T21 inhiberait la TEM des cellules MDA-MB-468. L'inhibition de la TEM devra être confirmée par l'étude de marqueurs épithéliaux et mésenchymateux ainsi que des facteurs de transcription impliqués dans la TEM. Le rôle de la MEC-T21 sur la TEM de ces cellules sera également précisé en évaluant, d'une part, l'effet des facteurs solubles sécrétés par les F-T21 et, d'autre part, la migration des cellules MDA-MB-468 sur une MEC-T21.

---

POSTERS

ESSAIS CLINIQUES ET THÉRAPIES

---

## ESSAIS CLINIQUES ET THÉRAPIES

**#2670 : Tempo : efficacité du timolol en administration nasale pour le traitement des épistaxis dans la maladie de Rendu-Osler. Essai randomisé en double insu contre placebo.**

### Auteurs :

Anne-Emmanuelle FARGETON (1), Jean-Charles LETIEVANT (2), Frédéric FAURE (3), Cyrille BERGEROT (4), Evelyne DECULLIER (5), Sylvie BIN (6), Valentine BREANT (7), Bettina COLLOMBET (7), Sophie DUPUIS-GIROD (1)

1. Service de génétique et centre de référence sur la maladie de Rendu-Osler, Hospices Civils de Lyon, Hôpital Femme Mère Enfant, Bron, France
2. Service ORL, Hospices Civils de Lyon, hôpital de la Croix Rousse, Lyon, France
3. Service ORL, Hospices Civils de Lyon, Hôpital Edouard Herriot, Lyon, France
4. Service Cardiologique, Hospices Civils de Lyon, Hôpital Louis Pradel, Bron, France
5. Pôle IMER, Hospices Civils de Lyon, Unité de Recherche Clinique, Lyon, France
6. Pôle IMER, Hospices Civils de Lyon, Unité de Recherche Clinique, Lyon, France
7. Pharmacie, Hospices Civils de Lyon, Groupement Hospitalier Est, Bron, France

**Mots clefs :** HHT, Epistaxis, Béta bloquant, Timolol

### Résumé :

**Contexte :** La maladie de Rendu-Osler est une maladie vasculaire génétique autosomique dominante liée à une anomalie de l'angiogenèse, associant télangiectasies et malformations artério-veineuses. La survenue d'épistaxis spontanées, répétées, fréquentes, est responsable d'anémie justifiant un traitement martial continu et parfois des transfusions de globules rouges multiples. La morbidité liée aux épistaxis est majeure. La prise en charge de ce symptôme fait appel à des traitements ORL locaux souvent agressifs dont l'efficacité est très variable et non démontrée.

Les bêta bloquants, largement utilisés en cardiologie, ont aussi des propriétés anti-angiogéniques et leur utilisation en dermatologie s'est développée récemment suite à la mise en évidence de l'efficacité du propranolol dans le traitement des hémangiomes infantiles.

Le timolol est un bêta bloquant non cardio-sélectif couramment utilisé sous forme de collyre pour le traitement des glaucomes. Son efficacité a également été démontrée pour le traitement des hémangiomes infantiles.

Dans la maladie de Rendu-Osler, un cas rapporté montre que le timolol en application nasale chez un patient atteint a permis une diminution significative des épistaxis. Par ailleurs, une étude *in vitro* conclut à une potentielle efficacité en application topique dans cette pathologie.

**Objectifs :** L'objectif principal est d'évaluer l'efficacité d'un traitement par spray nasal de timolol sur la durée moyenne mensuelle des épistaxis chez des patients atteints de la maladie de Rendu-Osler. Les objectifs secondaires sont d'évaluer la tolérance du timolol en spray nasal et l'efficacité sur l'anémie et les paramètres cliniques (fréquence des saignements de nez, nombre de transfusions et qualité de vie des patients) jusqu'à 6 mois après la fin du traitement.

**Méthodologie :** Etude prospective randomisée en double insu contre placebo (1/1).

Le traitement par timolol en spray nasal sera jugé intéressant si au moins la moitié des patients est améliorée. L'amélioration sous traitement est définie par une diminution d'au moins 30% de la moyenne de la durée mensuelle des épistaxis après traitement par rapport à l'inclusion.

Il est prévu d'inclure 58 patients (29 patients par bras) sur une durée de deux ans.

Le produit (solution de timolol à 0.5% ou placebo) est administré par le patient à domicile avec une posologie d'une pulvérisation par narine, deux fois par jour, pendant 4 semaines.

**Resultats :** Le premier patient a été inclus en juin 2015 et les résultats sont attendus pour le deuxième semestre 2017.

## ESSAIS CLINIQUES ET THÉRAPIES

**#2752 : Efficacité d'un traitement par L-Arginine chez un patient porteur d'un trouble de la biogénèse des peroxyosomes par mutation de PEX12**

### Auteurs :

Arthur SORLIN (1), Gilbert BRIAND (2), David CHEILLAN (3), Arnaud WIEDEMANN (4), Bettina MONTAUT-VERIENT (5), Emmanuelle SCHMITT (6), François FEILLET (4)

1. Laboratoire de Génétique, CHRU de Nancy, NANCY, France
2. UF métabolisme général, hormonal et maladies rares, Laboratoire de biochimie et biologie moléculaire, CHRU de Lille, LILLE, France
3. Service des Maladies Héritaires du métabolisme et Dépistage Néonatal, Centre de Biologie Est, Hospices Civils de Lyon, BRON, France
4. Maladies Héritaires du Métabolisme, Service de Médecine Infantile, Hôpital d'Enfants, CHRU de Nancy, NANCY, France
5. Service d'Oto-rhino-laryngologie et Chirurgie Cervico-Faciale, CHRU de Nancy, NANCY, France
6. Service de Neuroradiologie, CHRU de Nancy, NANCY, France

### Résumé :

Les troubles de la biogénèse des peroxyosomes (Peroxisome biogenesis disorders, PBD) sont un groupe hétérogène de pathologies de transmission autosomique récessive, dues à des mutations des gènes *PEX*. Ils comprennent un large spectre clinique, allant du syndrome de Zellweger (pathologie néonatale sévère associant épilepsie, hypotonie massive, dysmorphie faciale, atteinte hépatique et cérébrale) à des formes plus modérées, infantiles tardives ou adultes (Adrénoleucodystrophie Néonatale et Maladie de Refsum Infantile). Dernièrement, Berendse *et al.* ont rapporté une amélioration *in vitro* de la fonction peroxyosomale, lors de la supplémentation en L-Arginine de fibroblastes de patients porteurs de certaines mutations de *PEX1*, *PEX6* ou *PEX12*. Nous rapportons le premier traitement au long cours par L-Arginine chez un patient porteur d'un trouble modéré de la biogénèse des peroxyosomes, dû à la présence à l'état homozygote d'une mutation de *PEX12*, étudiée par Berendse *et al.* et sensible *in vitro* à l'arginine. Au cours de cette expérience de 12 mois, nous avons observé une amélioration à la fois clinique (amélioration du contact et de l'éveil, diminution de l'hypersialorrhée), paraclinique (amélioration de l'audition) et biologique (diminution de la concentration plasmatique des paramètres peroxyosomaux). Cette description suggère que certains patients porteurs de PBD en lien avec certaines mutations des gènes *PEX* pourraient tirer bénéfice d'une supplémentation par L-Arginine.

## ESSAIS CLINIQUES ET THÉRAPIES

**#2780 : Formations « explique-moi les essais cliniques » : principes des essais cliniques enseignés aux membres d'associations de malades dans le champ des maladies rares**

### Auteurs :

Marion MATHIEU (1), Laurent CHICHE (2), Eric BALEZ (3), Cécile COLOMBAN (4), Marine BERRO (4), Leïla BACHIR (5), Allan Wilsdorf (5)

1. Pôle Associations de Malades, Tous Chercheurs, Marseille, France
2. Service de médecine interne, hôpital Européen, Marseille, France
3. , Association François Aupetit, Saint Laurent Du Var, France
4. , OrphanDev, Marseille, France
5. , F-Crin, Toulouse, France

**Mots clefs** : essais cliniques, maladies rares, formation, associations de malades, film, mise en situation, visite de sites, ateliers pratiques

### Résumé :

**Introduction** : Les associations de patients jouent un rôle grandissant dans les essais cliniques. Elles peuvent faciliter la diffusion de l'information concernant la mise en place d'un essai clinique et motiver la participation. Une meilleure connaissance des principes des essais cliniques est souhaitable, notamment dans le domaine des maladies rares. L'association Tous Chercheurs, OrphanDev/F-CRIN, et l'Association François Aupetit (AFA) ont initié en octobre 2014, le projet novateur « Explique moi les essais cliniques » sur le thème des essais cliniques dans le champ des maladies rares.

**Méthode** : Le projet comportait deux volets : d'une part, la mise en place d'une formation et d'autre part, la réalisation d'un film. L'objectif de la formation, d'une durée de deux jours, était de donner des clés de compréhension aux membres d'association sur les grands principes des essais cliniques. Durant la formation, l'AFA a réalisé un film éducatif sur les essais cliniques pour répondre à la demande de malades qui méconnaissent les possibilités de participation et restent méfiants vis-à-vis d'un "système" perçu comme peu compréhensible. 19 membres, provenant de 14 associations de malades, ont participé à une première session de formation les 14 et 15 octobre 2014 à Marseille et 18 autres, provenant aussi de 14 associations de malades, à la deuxième session les 29 et 30 septembre 2015.

**Résultats** : La note globale de satisfaction donnée par les participants a été de 16.7/20 pour la 1ère session (le bilan de la session 2 est en cours de réalisation). Les participants ont particulièrement apprécié l'interactivité et le caractère concret (tables rondes, mises en situation, rencontre des différents acteurs des essais cliniques). Les échanges ont été riches, notamment lors de la table ronde sur les rôles potentiels des membres d'associations de malades dans la mise en place et la réussite de ces essais aux différentes étapes : recrutement des patients, rédaction du consentement, relais de l'information au sein de leur association. Une seconde session a été planifiée en septembre 2015 et la diffusion du film éducatif sera pour début 2016.

## ESSAIS CLINIQUES ET THÉRAPIES

#2998 : Development and formulation of synthetic nanocarriers for an efficient and safe gene delivery via aerosol

### Auteurs :

Tony Le Gall (1), Mathieu Berchel (2), Angélique Mottais (1), Yann Sibiril (1), Claude Ferec (3), Pierre Lehn (1), Paul-Alain Jaffres (2), Tristan Montier (3)

1. Unité INSERM 1078 - Faculté de médecine de Brest, Université de Bretagne Occidentale, Brest, France
2. UMR CNRS 6521 ; Faculté des Sciences de Brest, Université de Bretagne Occidentale, Brest, France
3. Unité INSERM 1078 - Faculté de médecine de Brest, Université de Bretagne Occidentale ; CHRU de Brest, Brest, France

**Mots clefs :** gene transfer, non-viral nanocarriers, cystic fibrosis, aerosol

### Résumé :

The use of nanotechnology applied to Health has gained interest during the last decade. It represents now a versatile strategy to perform a selective drug delivery. Nanosizing a formulation promotes the drug dissolution leading to improve their absorption and bioavailability. Depending on their chemical properties and administration pathways, nanocarriers provide protection and a reduced clearance of quickly degraded or short half-life compounds, thus prolonging pharmacological effects and organ/cell-specific uptake.

However, the enhancement of drug delivery using nanoparticles could induced some side-effects. Therefore, the pharmacokinetic pattern of the efficient drug and the encapsulated one may differ. Consequently, it is of importance to document pharmacetics and biodistribution of these formulations to evaluate the efficacy and potential side-effects, especially when they have to be readministered.

Among nanoparticles, cationic liposomes are widely used as non viral vectors for both in vitro and in vivo applications. Most of them are composed of three basic domains: a hydrophilic positively charged headgroup, a hydrophobic domain composed of two aliphatic chains or a cholesterol motif and a spacer, linking both parts. Inspired from cell membrane phospholipids, our group has modulated during the past decade each structural domain to improve their gene delivery efficacy, and particularly in the lungs. Thus, cationic lipophosphoramidates, composed of an arsonium headgroup linked via a phosphoramidate linker to two aliphatic chains appeared as a balance between a high transfection efficiency and a good tolerance in mice.

However, the liposome-mediated in vivo gene delivery has also been limited by a transient transgene expression. Gene therapy of chronic lung diseases such as cystic fibrosis (CF) needs a long-term expression of CFTR involving repeated administrations, in order to obtain a sustained gene expression in slow dividing cells or fully differentiated epithelial cells of the lungs. Furthermore, in such clinical context, a local delivery of nanocomplexes in an aerosol form is required.

Since most of viral vectors become ineffective when repeatedly administrated due to the induction of an immune response against viral proteins, synthetic carriers appear more suitable for this purpose. Moreover, they are well characterized, their structure can be fine tuned and their potential toxicity can be reduced since it depends on the composition of the formulations. During the last years, several formulations were developed and administrated via aerosol to mice. We demonstrated that some of them were more efficient than the GL67-A used as a reference. Additionally, no side-effect was observed. Here, the progressive modifications of the carriers structure and formulations were presented in order to overcome the major hurdles limiting the effectiveness of nucleic acid therapies.

## ESSAIS CLINIQUES ET THÉRAPIES

### #3005 : Correction phénotypique et respiratoire par thérapie génique dans un modèle préclinique du syndrome de Rett

#### Auteurs :

Valérie Matagne (1), Laurent Villard (1), Jean-Christophe Roux (1)

1. Unité de Neurogénétique Humaine, Aix Marseille Université, INSERM, GMGF UMR\_S 910, 13385, Marseille, France, Marseille, France

**Mots clefs :** Syndrome de Rett, Thérapie Génique, AAV9, *Mecp2*

#### Résumé :

Le syndrome de Rett est une maladie neurologique progressive d'origine génétique qui affecte les filles avec une fréquence de 1/15.000. La plupart des cas sont causés par une mutation dans le gène *MECP2* (Methyl CpG binding protein 2). Les premiers symptômes se manifestent chez les filles âgées de 6 à 18 mois et consistent en un arrêt de croissance cérébrale, un ralentissement du développement et une perte/régression des capacités psychomotrices acquises. A l'heure actuelle, il n'existe pas de traitement pour le syndrome de Rett.

Il a été récemment montré que la réintroduction du gène *Mecp2* dans un modèle murin du syndrome de Rett résulte en une guérison quasi-totale de l'animal adulte malade (Guy et al, Science 2007; Robinson et al, Brain 2012). Ces résultats encourageants nous ont conduit à tester l'effet d'une approche de thérapie génique chez les souris déficientes pour le gène *Mecp2* (Guy et al, Nat Genet 2001), modèle principal d'étude du syndrome de Rett.

Parmi les différents types de vecteurs viraux utilisés pour la thérapie génique, nous avons choisi l'AAV9 (Adeno-Associated Virus 9) car celui-ci traverse la barrière hémato-encéphalique (BHE) après injection intraveineuse (Foust et al. Nat Biotech, 2009; Duque et al. Mol Ther, 2009).

Nous avons généré un vecteur thérapeutique exprimant une version optimisée du gène *Mecp2* (MCO) sous le contrôle de son promoteur endogène, qui a été incorporée dans le virus AAV9 (AAV9-MCO). Comme démontré par d'autres équipes, après injection i.v. chez des souris, ce virus traverse la BHE et infecte surtout les neurones. Les effets thérapeutiques de l'AAV9-MCO ont été étudiés en injectant des souris Rett mâles avec le virus AAV9-MCO à l'âge de 30 jours (PN30,  $2 \times 10^{11}$  vg/souris en i.v.). La progression de la pathologie a ensuite été examinée par différents tests réalisés à PN35, PN45, PN55 et PN70. Les résultats obtenus montrent que l'AAV9-MCO améliore de manière significative la coordination sensorimotrice (Rotarod) et l'activité locomotrice spontanée (open field) à PN55 chez les souris Rett traitées vs non traitées. Nous avons également observé une amélioration de la fonction respiratoire chez les souris Rett traitées, caractérisée par une diminution significative du nombre d'apnées par heure ( $5 \pm 3$  vs  $138 \pm 48$ , souris traitées vs non traitées) à PN45.

Ces résultats précliniques prometteurs sont en accord avec d'autres résultats publiés utilisant des modèles du syndrome de Rett (Gadalla et al. Mol Ther 2013; Garg et al. J neurosci 2013). Sur la base de ces résultats, nous examinerons prochainement les effets de la thérapie génique chez les souris Rett femelles qui constituent le modèle le plus pertinent pour le syndrome de Rett.

## ESSAIS CLINIQUES ET THÉRAPIES

**#3059 : Rôle indispensable des Attachées de Recherche Clinique Hospitaliers dans la réussite des essais cliniques**

### Auteurs :

Rachel GRYBEK (1), Honorine KAYIRANGWA (1), Faïza METMER (1), Thu Dung NGUYEN DUC (1), Juliette LY (1), Geneviève BAJJAT (2), Josseline KAPLAN (2), Tania ATTIE (2), Stanislas LYONNET (1), Arnold MUNNICH (1), Valérie CORMIER-DAIRE (1), Kim-Hanh LE QUAN SANG (1)

1. Génétique Médicale, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France
2. Service Génétique, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France

**Mots clefs :** gestion des essais cliniques, attachés de recherche clinique hospitaliers, techniciens d'études cliniques

### Résumé :

En France, le métier d'Attaché de Recherche Clinique s'est considérablement développé depuis une décennie. Leur rôle en milieu hospitalier n'a cessé de prendre de l'ampleur pour devenir à ce jour indispensable.

Depuis 2007, une Equipe de Recherche Clinique s'est développée « in situ » au sein même du Service de Génétique Médicale d'*Imagine* à l'hôpital Necker-Enfants Malades pour la gestion d'un nombre croissant de projets de recherche institutionnels et industriels. Les Attachés de Recherche Clinique Hospitaliers (ARCs Hospitaliers) ou Techniciens d'Etudes Cliniques (TECs) sont en particulier d'une aide précieuse aux médecins-investigateurs des Centres de Référence.

L'implication des TECs au quotidien au côté des investigateurs assure la qualité et la bonne organisation des essais cliniques. Elle consiste :

- Au suivi logistique des patients avec la programmation des visites des patients sur le site, les prises des rendez-vous pour les examens médicaux et paramédicaux .
- Au suivi du stock et à la vérification des traitements dispensés à chaque patient par la Pharmacie à Usage Interne (PUI).
- Au monitoring des essais cliniques selon les Bonnes Pratiques Cliniques (BPC) comme la préparation des documents en lien avec le cahier d'observation électronique (E-CRF) et la collecte des résultats des examens médicaux et paramédicaux.
- Aux saisies de données sur des bases dédiées à chaque projet dans le système informatique ainsi qu'à la réponse à des questions lors des saisies (queries).
- A la préparation et l'envoi des échantillons biologiques aux laboratoires centralisés exigés par le protocole, selon les Règles de Bonnes Pratiques de Laboratoire.

En dehors de cet engagement au quotidien pour le bon déroulement des essais cliniques lors des visites des patients sur le site, les TECs de notre équipe sont présentes à des consultations médicales aux côtés des investigateurs. Elles accompagnent aussi les patients et leurs familles à des examens multidisciplinaires (imagerie, cardiologie, ophtalmologie, ORL, prélèvement sanguin, kinésithérapie, etc...) pour permettre à la famille d'être présente à l'heure des rendez-vous sans se perdre dans les multiples bâtiments.

Les TECs de notre équipe apportent en plus un soutien indispensable aux jeunes patients et leurs familles dans les moments difficiles et répondent à de multiples interrogations. Elles exercent un rôle de soutien, d'écoute et de réconfort. Cette qualité humaine est extrêmement appréciée par les familles.

En conclusion, l'Attachée de Recherche Clinique Hospitalière est indispensable aux côtés des investigateurs pour la bonne organisation d'un essai clinique, de la prise en charge humaine, logistique et administrative du patient et de sa famille. Cependant, ce « nouveau métier » n'est pas toujours bien reconnue et son statut à l'hôpital reste encore précaire.

## ESSAIS CLINIQUES ET THÉRAPIES

**#3071 : Evaluation de l'efficacité anti-tumorale d'un inhibiteur des kinases mTORC1 et mTORC2 sur des cellules de Schwann dérivées de MPNST et de neurofibromes plexiformes de patients atteints de neurofibromatose de type 1**

### Auteurs :

Jennifer VARIN (1), Laury POULAIN (2), Mikael HIVELIN (3), Patrick NUSBAUM (4), Arnaud HUBAS (4), Ingrid LAURENDEAU (1), Armelle LUSCAN (1), Virginie ESCRIOU (5), Laurent LANTIERI (3), Pierre WOLKENSTEIN (6), Dominique VIDAUD (1), Michel VIDAUD (1), Eric PASMANT (1), Nicolas CHAPUIS (2), Béatrice PARFAIT (4)

1. EA7331 - Faculté de Pharmacie, Université Paris Descartes, PARIS, France
2. CNRS UMR8104, INSERM U1016, Institut COCHIN, PARIS, France
3. Service de Chirurgie Plastique et Reconstructrice, Hôpital Européen Georges Pompidou - APHP, PARIS, France
4. Service de Génétique et Biologie Moléculaires, Hôpital Cochin - APHP, PARIS, France
5. UMR8258 CNRS - U1022 Inserm, Faculté de Pharmacie, Paris, France
6. Service de Dermatologie, Hôpital Henri Mondor - APHP, CRETEIL, France

**Mots clefs :** NF1, cellules de Schwann, MPNST, mTOR, thérapeutique ciblée

### Résumé :

La neurofibromatose de type I (NF1, MIM162200) est une maladie héréditaire à transmission autosomique dominante fréquente due à la perte de fonction du gène suppresseur de tumeur *NF1*. Environ 30 à 50% des patients atteints de NF1 développent des tumeurs bénignes des gaines des nerfs périphériques, appelées neurofibromes plexiformes. Dans 5 à 10% des cas, ces neurofibromes plexiformes se transforment en tumeurs malignes des gaines nerveuses (MPNSTs) de très mauvais pronostic et principale cause de mortalité des patients. Le développement de thérapeutiques ciblées est par conséquent un enjeu majeur.

Dans ces tumeurs, l'haplo-insuffisance du gène *NF1* conduit en particulier à l'activation des voies de signalisation AKT-mTOR et RAF/MEK/ERK qui constituent des cibles thérapeutiques. Dans cette étude, quatre lignées cellulaires dérivées de MPNST (90-8, 96-2, 88-14 et STS26T) et des cultures primaires de cellules de Schwann dérivées de neurofibromes plexiformes de patients NF1 ont été utilisées pour tester comparativement l'action d'un inhibiteur compétitif de la protéine mTOR agissant à la fois sur les activités catalytiques des complexes mTORC1 et mTORC2 et la rapamycine, qui inhibe uniquement l'assemblage du complexe mTORC1 et dont l'efficacité thérapeutique n'a pas été démontrée. L'effet anti-prolifératif est comparativement plus élevé et est observé pour les lignées cellulaires *NF1*-null (90.8, 96.2 et 88.14) avec des IC50 comprises entre 70 et 140 nM. Cet effet est confirmé avec les cultures primaires de cellules de Schwann dérivées de neurofibromes plexiformes. La migration cellulaire est altérée et l'analyse du cycle cellulaire montre un arrêt marqué, dose-dépendant, en phase G0/G1. Les effets de cet inhibiteur ont été ensuite testés en combinaison avec un inhibiteur de MEK actuellement en essai clinique (PD0325901) ou des inhibiteurs des protéines à bromodomaine (JQ1, I-BET-762 et OTX015). Un effet synergique a été observé pour les deux associations.

L'efficacité de ce traitement doit maintenant être testée *in vivo* dans des modèles murins mais l'ensemble de ces données suggèrent que l'inhibition des complexes mTORC1 et mTORC2 constitue, seule ou en association, une approche thérapeutique prometteuse pour les tumeurs malignes et bénignes des gaines des nerfs périphériques associés à la NF1.

## ESSAIS CLINIQUES ET THÉRAPIES

**#3087 : Essai thérapeutique pilote non randomisé pour le traitement par Sirolimus de syndromes hypertrophiques reliés à PIK3CA – PROMISE**

### Auteurs :

Elodie GAUTIER (1), Pierre VABRES (2), Romaric LOFFROY (3), Carine BONNIN (4), Pierre POTTECHER (5), Marc BARDOU (4), Alexandra DELIGNETTE (6), Charlotte BERNIGAUD (7), Maud CARPENTIER (8), Christine BINQUET (9), Maxime LUU (4), Christel THAUVIN (1), Nolwenn JEAN (10), Daphné LEHALLE (10), Julien THEVENON (1), Jean-Baptiste RIVIERE (1), Paul KUENTZ (1), Kim KEPPLER-NOREUIL (11), Leslie BIESECKER (11), Robert SEMPLE (12), Victoria PARKER (13), Laurence FAIVRE (1)

1. FHU TRANSLAD - Hôpital d'Enfants, CHU Dijon, Dijon, France
2. FHU TRANSLAD; Service de Dermatologie, CHU Dijon, Dijon, France
3. Radiologie et Imagerie médicale diagnostique et thérapeutique, CHU Dijon, Dijon, France
4. CIC 1432, CHU Dijon, Dijon, France
5. Service de neuroradiologie, CHU Dijon, Dijon, France
6. Imagerie Médicale, Dijon Tour Elithis, Dijon, France
7. Service de Dermatologie, CHU Dijon, Dijon, France
8. DRCI, CHU Dijon, Dijon, France
9. FHU TRANSLAD; INSERM CIC 1432 (CIC-EC), CHU Dijon, Dijon, France
10. Centre de Référence Maladies Rares, CHU Dijon, Dijon, France
11. Medical Genetics, NHGRI/ NIH, Bethesda, USA, France
12. Department of Clinical Biochemistry, University of Cambridge: Institute of Metabolic Science, Cambridge, France
13. IMS-MRL, Addenbrooke's Hospital, Cambridge, France

### Résumé :

Les syndromes hypertrophiques sont des affections rares caractérisées par une croissance anormale, le plus souvent asymétrique et limitée à une région du corps. Des mutations en mosaïques du gène *PIK3CA* sont retrouvées dans la plupart des syndromes hypertrophiques. Le spectre des syndromes hypertrophiques liés à *PIK3CA* est large, et dépend du moment où la mutation est apparue au cours de l'embryogénèse. Actuellement, la chirurgie de réduction itérative est la seule option thérapeutique disponible. La voie de signalisation PI3K-AKT-mTOR régule la croissance, la prolifération et la survie cellulaire. Les mutations activatrices de *PIK3CA* entraînent une augmentation de l'activation AKT-mTORC1, qui entraîne à son tour une croissance excessive dans le tissu atteint. L'identification d'un mécanisme type gain de fonction dans *PI3KCA* a fait apparaître des perspectives de traitement du fait de l'existence de thérapeutiques inhibitrices de la voie de signalisation PI3K-AKT. Le Sirolimus est un inhibiteur allostérique de mTOR, et a actuellement une AMM pour limiter le rejet de greffe, avec une sécurité à long terme établie. Afin de mesurer l'effet du traitement par Sirolimus à faible dose sur la réduction de l'hypertrophie liée à *PIK3CA*, un essai pilote de phase II non randomisée a été mis en place, pour mieux appréhender la planification d'un futur essai thérapeutique randomisé. Le critère d'évaluation principal est la stabilité ou régression de l'hypertrophie, déterminée par la mesure du % relatif de réduction de la zone hypertrophiée, par IRM volumétrique, après 6 mois de traitement de Sirolimus à faible dose. 45 patients ont été recrutés dans 3 pays (Dijon (France), Cambridge (GB) et Bethesda (USA)), selon les critères d'inclusion suivants : mutation post-zygotique *PIK3CA*, âge : 3 à 65 ans, hypertrophie mesurable avec antécédents de progression de l'hypertrophie, état général stable, existence d'un handicap fonctionnel, social ou esthétique nécessitant un traitement selon l'avis du patient. Les patients sont au départ suivis pendant 6 mois sans traitement pour juger de l'évolution spontanée avant mise sous traitement, puis bénéficient de 6 mois de traitement. Les 15 patients français ont été inclus à partir de 6 sites différents. L'évaluation à M0, M6 et M12 est systématiquement réalisée au niveau du site coordonnateur de Dijon, et comprend, en plus de l'IRM volumétrique du segment le plus hypertrophié et/ou le plus facilement mesurable, un DXA, des mesures cliniques, des photographies, et une échelle de qualité de vie. Les relectures des examens seront centralisées sur le site de Cambridge. Les résultats devraient être connus au Printemps 2017, et cet essai permet d'ouvrir des espoirs thérapeutiques pour les personnes atteintes.

## ESSAIS CLINIQUES ET THÉRAPIES

### #3343 : Le régime cétogène, une stratégie alternative pour réduire la dysfonction mitochondriale dans le syndrome MELAS

#### Auteurs :

Guillaume Geffroy (1), Samuel Frey (1), Valérie Dumas-Desquiret (1), Sophie Belal (1), Naig Gueguen (1), Céline Bris (1), Patrizia Bonneau (1), Arnaud Chevrollier (1), Magalie Barth (1), Daniel Henrion (1), Guy Lenaers (1), Dominique Bonneau (1), Pascal Reynier (1), Vincent Procaccio (1)

1. , UMR CNRS 6214-INSERM U1083, Université d'Angers, Angers, France

**Mots clefs :** Mitochondrie, Maladies mitochondriales, ADN mitochondrial, syndrome MELAS, régime cétogène

#### Résumé :

La mitochondrie produit la majeure partie de l'énergie cellulaire mais a également la particularité de posséder son propre ADN mitochondrial (ADNmt). Les anomalies génétiques touchant cet ADNmt sont responsables de maladies comme le syndrome MELAS (Mitochondrial Encephalopathy Lactic Acidosis Syndrome) avec notamment la mutation m.3243A > G affectant l'ARNt<sub>leu</sub>, responsable de 80% des cas de MELAS. De plus, au sein d'une même cellule, des copies d'ADNmt saines et mutées peuvent coexister définissant l'hétéroplasmie. L'expression phénotypique de la maladie va ainsi dépendre des proportions d'ADN normal et muté.

Ce syndrome se distingue par la survenue d'accidents vasculaires cérébraux responsables d'atteintes neurologiques invalidantes avec également un déficit sévère de l'activité enzymatique du complexe I, associé à un défaut d'assemblage précoce de ce complexe entraînant une carence énergétique sévère. Il n'existe pas à ce jour de traitement curatif pour les maladies mitochondriales. La mise en place de stratégies thérapeutiques permettant de modifier le taux de mutation de l'ADNmt apparaît donc comme essentiel pour mieux appréhender le traitement de ces maladies.

Nous avons étudié les effets de la réduction de la concentration de glucose sur un modèle cellulaire cybride neuronal porteur de la mutation m.3243A > G, créée au laboratoire. Ce traitement a en particulier démontré une réduction significative du taux de mutation après 4 semaines de culture avec une amélioration nette de la fonction mitochondriale. Cette stratégie peut être utilisée via le régime cétogène qui associe outre un apport réduit en carbohydrates, l'ajout de corps cétoniques (acéto-acétate et  $\beta$ -hydroxybutyrate). Ce régime cétogène est couramment utilisé avec succès depuis des décennies pour le traitement des épilepsies pharmaco-résistantes.

Nous avons montré l'efficacité de ce traitement cétogène avec la restauration de l'activité de la chaîne respiratoire et de la production énergétique. En effet, le régime cétogène après 4 semaines de traitement restaure significativement l'assemblage et activité du complexe I permettant une augmentation de la respiration cellulaire et de la synthèse oxydative d'ATP. De plus, l'efficacité clinique de ce régime a été démontrée *in vivo* avec un patient atteint de MELAS. Le traitement prolongé du patient a montré une amélioration significative des symptômes clinico-biologiques (épisodes de pseudo-AVC, réduction des troubles neurologiques et de l'acidose lactique) associée à une réduction significative du taux de mutation.

La mise en évidence *in vitro* de l'efficacité du régime cétogène permet ainsi d'apporter pour la première fois un rationnel scientifique sur l'efficacité thérapeutique de ce régime mais aussi de mieux comprendre les mécanismes moléculaires à la base de cette adaptation métabolique. Ceci afin développer des thérapeutiques plus ciblées et de valider l'intérêt du régime cétogène pour les maladies mitochondriales.

## ESSAIS CLINIQUES ET THÉRAPIES

**#3455 : MG132 induit la clairance de la progérine et améliore les phénotypes cellulaires chez des patients atteints de progeria de Hutchinson-Gilford**

### Auteurs :

Karim Harhour (1), Claire Navarro (1), Danielle Depetris (1), Marie-Geneviève Mattei (1), Xavier Nissan (2), Pierre Cau (1), Annachiara De Sandre-Giovannoli (1), Nicolas Lévy (1)

1. UMR\_S 910 Génétique Médicale et Génomique Fonctionnelle, Aix-Marseille Université - Faculté de Médecine de la Timone, Marseille, France

2. CECS, I-STEM, AFM, Institut des cellules Souches pour le Traitement et l'Etude des maladies Monogéniques, Paris, France

**Mots clefs :** HGPS, Progérine, PML-NBs, MG132, autophagie, SRSF-1

### Résumé :

La Progéria de Hutchinson-Gilford (HGPS; OMIM # 176670) est une maladie génétique rare caractérisée par un vieillissement prématuré et accéléré. Ce syndrome résulte d'une mutation dans l'exon 11 du gène *LMNA* codant les lamines A et C, induisant l'activation d'un site cryptique d'épissage, et la synthèse d'une forme tronquée et farnésylée de prélamine A, la progérine. Celle-ci s'accumule dans les noyaux cellulaires exerçant un effet toxique qui affecte la distribution et l'organisation structurale de la matrice nucléaire et de nombreuses voies de signalisation et de régulation de l'homéostasie nucléaire. Les enfants atteints de progéria présentent un retard de croissance, une peau fine, une perte du tissu adipeux sous-cutané, une alopecie, une ostéoporose et une atteinte cardiovasculaire majeure entraînant le décès à un âge moyen de 13,5 ans.

Trois stratégies principales ont été proposées pour corriger les effets toxiques de l'accumulation de progérine : (i) inhiber sa farnésylation pour diminuer sa toxicité; (ii) réduire sa production en bloquant le site cryptique d'épissage conduisant à la synthèse d'ARNm pathologiques par des oligonucléotides antisens de type morpholino (AON) ; (iii) augmenter sa dégradation.

Les études ciblées autour de la première stratégie ont permis la réalisation des premiers essais cliniques chez des enfants atteints de Progeria. Sur la base du modèle de souris *Lmna*<sup>G609G/G609G</sup>, nous avons par ailleurs obtenu la preuve de principe préclinique de l'efficacité d'utilisation d'un traitement par AON, permettant de réduire la production de progérine.

Nous nous sommes intéressés ici aux mécanismes de l'accumulation anormale de la progérine, de sa dynamique cellulaire et en particulier de sa dégradation. Nous montrons que la progérine est séquestrée dans des corps nucléaires d'aspect filamenteux, les PML-NBs (ProMyelocytic Leukemia-Nuclear Bodies), identifiés comme de nouveaux biomarqueurs dans la Progeria. Nous montrons également que l'inhibiteur du protéasome MG132 induit une translocation nucléocytoplasmique de la progérine après une transition à travers le nucléole aboutissant à sa dégradation par macroautophagie. Le MG132 réduit également la production des transcrits progérine résultant de la diminution des niveaux de SRSF-1 contrôlant l'épissage aberrant et la production de la progérine. Le traitement avec MG132 réduit la sénescence cellulaire et améliore la viabilité et la prolifération des fibroblastes de patients HGPS. *In vivo*, l'injection intramusculaire de MG132 réduit localement l'expression de la progérine chez des souris *Lmna*<sup>G609G/G609G</sup>. Au total, nous montrons une clairance de la progérine induite par une double action du MG132 : celle-ci constitue de ce fait une molécule à très fort potentiel thérapeutique pour les enfants atteints de progeria et des maladies apparentées.

## ESSAIS CLINIQUES ET THÉRAPIES

**#3460 : Réduction des prélamines A toxiques chez des patients présentant des atteintes HGPS-like et MAD-B par une approche antisens**

### Auteurs :

Karim Harhour (1), Claire Navarro (1), Camille Baquerre (1), Nathalie Dasilva (1), Nicolas Lévy (1), Annachiara De Sandre-Giovannoli (1)

1. UMR\_S 910 Génétique Médicale et Génomique Fonctionnelle, Aix-Marseille Université - Faculté de Médecine de la Timone, Marseille, France

**Mots clefs :** HGPS-Like, MAD-B, oligonucleotides antisense, progérine, prélamine A  $\Delta$ 90, prélamine A  $\Delta$ 35

### Résumé :

Les laminopathies progéroïdes, incluant la progéria de Hutchinson-Gilford (HGPS), les syndromes HGPS-like et la dysplasie acromandibulaire de type B (MAD-B) sont des maladies génétiques rares caractérisées par un vieillissement prématuré et accéléré causé par des défauts dans les lamines A, protéines nucléaires ubiquitaires. Les enfants atteints de HGPS présentent un retard de croissance, une peau fine, une perte du tissu adipeux sous-cutané, une alopecie, une ostéoporose et une atteinte cardiovasculaire entraînant le décès à un âge moyen de 13,5 ans par infarctus du myocarde. La mutation récurrente à l'origine de la progéria est une substitution hétérozygote *de novo* dans l'exon 11 du gène *LMNA* : c.1824C>T (Gly608Gly). Celle-ci active un site cryptique d'épissage dans l'exon 11 qui conduit à la délétion de 50 acides aminés au niveau du domaine carboxy-terminal du précurseur prélamine A et la synthèse d'une forme tronquée et stablement farnésylée appelée LADelta50 ou progérine. Certains patients sont atteints de syndromes dits "HGPS-like", plus ou moins sévères que la HGPS "classique" : ils sont porteurs d'autres mutations dominantes du gène *LMNA* induisant des épissages aberrants. Ces patients produisent donc de la LADelta50 et/ou d'autres formes tronquées de prélamine A (delta35 et delta90). Les patients atteints de MAD-B présentent, quant à eux, une accumulation de prélamine A sauvage à cause de mutations perte de fonction du gène codant la métalloprotéase ZMPSTE24, impliquée dans sa maturation.

L'accumulation de prélamines A sauvages ou tronquées (LADelta50, delta35 et delta90) exerce des effets toxiques majeurs, dominants négatifs, sur plusieurs processus nucléaires fondamentaux, aboutissant à l'atteinte systémique observée chez les patients.

Trois stratégies principales sont envisageables pour corriger les défauts dans les syndromes progéroïdes: (i) diminuer la toxicité des prélamines A farnésylées accumulées; (ii) augmenter la dégradation des prélamines A; (iii) bloquer le(s) site(s) cryptique d'épissage conduisant à la production d'ARNm aberrants. Dans ce cadre, l'utilisation d'oligonucléotides antisens de type morpholino (AON) ciblant les exons 10 et 11 du gène *LMNA* au niveau des pré-ARNm a déjà montré son efficacité *in vitro* sur des cellules de patients atteints de progéria classique et *in vivo* dans un modèle murin mimant la pathologie (*Lmna*<sup>G609/G609G</sup>), en diminuant la production de progérine et améliorant les phénotypes pathologiques. Nous montrons que les AON peuvent empêcher l'épissage pathologique du gène *LMNA*, réduisant nettement l'accumulation des prélamines A tronquées ou sauvages dans les cellules de patients HGPS-like ou MAD-B.

Ces résultats fournissent une preuve de principe préclinique complémentaire aux précédentes, démontrant l'efficacité des AON chez des patients présentant des atteintes HGPS-like et MAD-B et étendant la cohorte de patients éligibles à l'inclusion dans un essai thérapeutique basé sur cette approche.

## ESSAIS CLINIQUES ET THÉRAPIES

**#3463 : Coût du séquençage NGS à visée diagnostique en génétique somatique et constitutionnelle : estimations à partir de 9 plateformes Françaises de génétique moléculaire des cancers (projet Inca NGS-Eco)**

### Auteurs :

Patricia Marino (1), Zhaomin Zou (2), Touzani Rajae (3), Ly Huong (4), Nathanaël Charrier (5), Rouleau Etienne (6), Isabelle Durand-Zaleski (7), Isabelle Borget (2), Lionel Perrier (8), Sandrine Baffert (9)

1. UMR 912, Institut Paoli-Calmettes, Marseille, France
2. Etudes et Recherche en Economie de la Santé, Gustave Roussy, Villejuif, France
3. UMR 912, Institut Paoli-Calmettes, Marseille, France
4. Unité d'Economie de la Santé, Institut Curie, Paris, France
5. URC Eco Ile de France, AP-HP, Paris, France
6. Laboratoire de génétique moléculaire, Institut Curie, Paris, France
7. URC Eco Ile-De-France , AP-HP, Paris, France
8. Direction de la Recherche Clinique et de l'Innovation, Centre Léon Bérard, Lyon, France
9. Service HTA-Economie de la Santé, Fondation A. de Rothschild, Paris, France

**Mots clefs :** NGS, Cancer, coûts, diagnostic moléculaire

### Résumé :

**Contexte.** Le séquençage de nouvelle génération (NGS) émerge comme un nouveau standard dans la recherche d'altérations génétiques à visée diagnostique. L'objectif de cette étude est d'évaluer le coût de production du séquençage NGS sur 9 plateformes de biologie moléculaire des cancers en France.

**Matériel et Méthode :** Le coût complet du séquençage NGS par patient a été estimé, depuis la phase pré-analytique jusqu'au rendu du résultat au clinicien, du point de vue de l'hôpital. Le coût complet a été calculé pour chacune des étapes du processus NGS : extraction, préparation des banques, séquençages, bioinformatique, validation technique et validation biologique. La méthodologie retenue est de type microcosting, incluant les facteurs de coûts suivants: consommables/réactifs, équipements/maintenance et personnels. Les consommables, réactifs et équipements ont été valorisés en utilisant les prix catalogue. Les coûts de personnels ont été calculés avec les salaires bruts chargés. La valorisation de la bioinformatique a pris en compte un coût R&D et le coût d'analyse de la série. Les frais d'organisation/management et les frais de structure ont été calculés par la méthode grosscosting, en appliquant un coût additionnel. Des analyses de sensibilité ont été réalisées sur l'ensemble des facteurs de coûts.

**Résultats :** Le processus de production NGS a été observé sur 20 laboratoires, dont 9 en génétique somatique, 10 en génétique constitutionnelle, et un en onco-hématologie. En génétique somatique, les méthodes d'enrichissement/séquençage les plus utilisées sont AmpliSeq/PGM (50% des laboratoires). En génétique constitutionnelle, les méthodes d'enrichissement sont plus disparates (Multiplicom, SureSelect, Haloplexex), alors que la méthode de séquençage privilégiée est le MiSeq (60% des laboratoires). L'estimation des coûts est en cours d'analyse, et les résultats seront disponibles pour le congrès. Le coût complet sera présenté par étape et les facteurs de coût les plus contributifs seront identifiés.

**Conclusion :** A ce jour, peu d'études ont évalué le coût complet du séquençage NGS. Face à l'augmentation croissante des anomalies génétiques recherchées en routine diagnostique, l'estimation d'un coût complet de ces technologies NGS est nécessaire. Elle est cependant complexe dans un contexte où ces technologies NGS ne sont toujours pas stabilisées.

## ESSAIS CLINIQUES ET THÉRAPIES

#3481 : La leucémie myélo-monocytaire chronique : une cause d'inflammation incontrôlée et fatale dans la fièvre méditerranéenne familiale

### Auteurs :

Fawaz Awad (1), Sophie Georgin-Lavialle (1), William Piterboth (2), Anne Brignier (3), Coralie Derrieux (4), Achille Aouba (3), Katia Stankovic-Stojanovic (5), Gilles Grateau (1), Serge Amselem (6), Olivier Hermine (3), Sonia-Athina Karabina (1)

1. Inserm, Sorbonne Universités UMPC Univ Paris 06, UMRS\_933, Hôpital Trousseau, Paris, France
2. U.F. de Génétique moléculaire (Assistance Publique – Hôpitaux de Paris), Hôpital Trousseau, Paris, France
3. Service d'Hématologie clinique, (Assistance Publique – Hôpitaux de Paris), Université Paris Descartes – Sorbonne Paris Cité, Imagine Institute, INSERM UMR 1163 et CNRS ERL 8254, Hôpital Necker, Paris, France
4. Laboratoire d'hématologie biologique (Assistance Publique – Hôpitaux de Paris), Hôpital Necker, Paris, France
5. Centre de référence de la fièvre méditerranéenne familiale, DHU I2B, Service de médecine interne (Assistance Publique – Hôpitaux de Paris), Hôpital Tenon, Paris, France
6. Inserm, Sorbonne Universités UMPC Univ Paris 06, UMRS\_933 & U.F. de Génétique moléculaire (Assistance Publique – Hôpitaux de Paris), Hôpital Trousseau, Paris, France

**Mots clefs :** FMF, MEFV, Inflammation, LMMC, Monocytes, Interleukine 18

### Résumé :

**Introduction :** La fièvre méditerranéenne familiale (FMF) est une maladie auto-inflammatoire de transmission autosomique récessive, secondaire à des mutations du gène *MEFV* (principalement p.M694V du domaine C-terminal de la protéine correspondante). Il s'agit de la plus fréquente des fièvres récurrentes héréditaires, dont la complication majeure réside dans le risque de survenue d'une amylose inflammatoire, le plus souvent rénale, pouvant conduire à terme à une insuffisance rénale. L'administration quotidienne de colchicine, qui doit être prise durant toute la vie, prévient en règle la survenue des crises fébriles et l'apparition de l'amylose inflammatoire. La leucémie myélo-monocytaire chronique (LMMC) est une maladie des cellules souches hématopoïétiques, considérée comme une néoplasie myélodysplasique/myéloproliférative. L'âge moyen de diagnostic de la LMMC est 70 ans, et le traitement actuel repose sur l'administration d'hydroxyurée et/ou de 5-azacitidine.

**Objectif :** Les monocytes circulants, qui expriment *MEFV*, étant une des cibles principales de la FMF, et représentant par ailleurs également les cellules cibles de la LMMC, notre objectif était de déterminer le statut inflammatoire des monocytes d'un patient au phénotype clinique sévère combinant FMF et LMMC.

**Méthodes :** Nous rapportons le cas d'un patient (cas index) présentant une FMF et ayant développé à 83 ans une LMMC caractérisée par un syndrome inflammatoire sévère, incontrôlé et ayant conduit au décès. Cette étude inclut neuf patients présentant une FMF, dont le patient LMMC. Tous les patients ont bénéficié d'une analyse du gène *MEFV*. Les taux de cytokines IL-1 $\beta$ , IL-6 et IL-18 ont été mesurés par ELISA dans le plasma des patients et de donneurs sains.

**Résultats :** Le patient (cas index), homozygote pour la mutation p.M694V, a été pris en charge à l'âge de 83 ans suite à une anémie profonde qui a révélé un syndrome myélodysplasique. Un syndrome inflammatoire important, persistait malgré un traitement par colchicine. Son état s'est détérioré rapidement avec un état inflammatoire sévère, incontrôlé et l'apparition d'une monocytose périphérique, révélant la transformation de son syndrome myélodysplasique en LMMC dont l'issue a été fatale en quelques mois. Les taux plasmatiques d'IL-6 et d'IL-18 étaient très élevés, comparativement aux donneurs sains et aux autres patients FMF sans LMMC.

**Conclusion :** Cette étude révèle l'interaction pouvant exister entre deux pathologies différentes impliquant les mêmes cellules cibles. Ces données suggèrent qu'en cas de myélodysplasie avec manifestations inflammatoires, des mutations dans les gènes impliqués dans des syndromes auto-inflammatoires, tel *MEFV*, peuvent être présentes et doivent donc être recherchées. Une chimiothérapie précoce associée à des inhibiteurs d'interleukines pro-inflammatoires peut être proposée dans ces situations particulières.

## ESSAIS CLINIQUES ET THÉRAPIES

**#3552 : Caractérisation des patients atteints d'épidermolyse bulleuse dystrophique récessive pour la préparation d'essais cliniques de thérapie génique et cellulaire**

### Auteurs :

Sonia GAUCHER (1), Joanna JACKOW (1), Matthias TITEUX (1), Nathalie PIRONON (1), Snaigune MISKINYTE (1), Clarisse GANIER (1), Soizic PORTIER (1), Soeli CHARBONNIER (1), Araksya IZMIRYAN (1), Emmanuelle BOURRAT (2), Alain HOVNANIAN (1)

1. INSERM UMR 1163, Laboratoire des maladies génétiques cutanées, Institut Imagine des maladies génétiques, Paris, France, Paris, France
2. Service de dermatologie, Hôpital Saint-Louis, APHP, Paris, France, Paris, France

**Mots clés :** Epidermolyse bulleuse dystrophique récessive (EBDR), collagène VII, immunofluorescence observée en microscopie confocale, test ELISA, test ELISPOT, greffe de peau équivalente génétiquement corrigée, thérapie génique, thérapie cellulaire.

### Résumé :

L'épidermolyse bulleuse dystrophique récessive (EBDR, OMIM #226600) est l'une des maladies génétiques cutanées les plus graves touchant les enfants et les jeunes adultes. Elle est due à des mutations du gène du collagène VII codant les fibres d'ancrage. Les patients développent des bulles secondaires à des traumatismes minimes, responsables de plaies cutanées et muqueuses chroniques et étendues, ainsi que de complications locales et systémiques. Plusieurs essais cliniques de thérapie génique et cellulaire ont montré un bénéfice clinique transitoire ou à long terme, mais il n'existe pas de traitement spécifique standardisé.

La caractérisation détaillée clinique, biologique, immunologique et moléculaire des patients revêt une importance toute particulière pour proposer la thérapeutique la plus adaptée et optimiser les chances de réussite de l'essai envisagé.

Notre étude porte sur 17 patients EBDR (10 femmes et 7 hommes) d'âge moyen de 27 ans (extrêmes 16-48 ans), répartis en formes généralisées sévères, intermédiaires et inversées.

Sur la base des scores standardisés des EB, l'évaluation clinique distinguait 2 sous-groupes de patients selon l'opérabilité des plaies cutanées : l'un avec des patients porteurs de plaies facilement accessibles à un traitement chirurgical par greffe de peau équivalente génétiquement corrigée ; l'autre pour lequel un traitement par injection locale ou systémique de cellules allogéniques ou autologues génétiquement corrigées semblait plus adaptée. Le ressenti du patient quant à la priorité des plaies à traiter était un critère important dans la hiérarchisation des plaies.

Sur le plan biologique, la majorité des patients présentait une diminution importante du marquage du collagène VII sur biopsie cutanée. Pour 2 patients, l'immunomarquage avec l'AC anti-collagène VII LH7.2, négatif en épifluorescence, était faiblement positif en microscopie confocale et par analyse par Western-blot. La recherche d'anticorps circulants anti-collagène VII par ELISA était négative chez la majorité des patients. Le test ELISPOT permettant de détecter la réactivité des lymphocytes T du patient vis à vis du collagène VII recombinant était positif chez 3 patients dont 1 seul présentait un collagène VII non détectable. Les patients présentant une forme généralisée sévère étaient le plus souvent hétérozygotes composites ou homozygotes pour des mutations conduisant à des codons stop prématurés (PTC). Les patients atteints d'EBDR généralisée intermédiaire ou inversée présentaient le plus souvent la combinaison d'une mutation conduisant à un PTC et d'une anomalie d'épissage ou une mutation faux sens.

En conclusion, la caractérisation détaillée des patients a permis d'identifier différents sous-groupes tenant compte des particularités cliniques et immunologiques, de déterminer leur éligibilité à un essai de thérapie génique ou cellulaire, et d'envisager, dans certains cas, la combinaison de plusieurs thérapies. (EBGen study, <http://www.ClinicalTrials.gov>)

## ESSAIS CLINIQUES ET THÉRAPIES

**#3571 : Recherche d'inhibiteurs pharmacologiques de CBS (cystathionine  $\beta$ -synthase), une enzyme dont la surexpression participe au dysfonctionnement intellectuel dans la trisomie 21**

### Auteurs :

Gaëlle Friocourt (1), Nadège Loaec (1), Alice Léon (1), Yann Hérault (2), Marc Blondel (1)

1. Inserm UMR1078, Université Bretagne Occidentale, Brest, France
2. IGBMC CNRS,, ICS, Strasbourg, France

**Mots clefs :** Cystathionine beta synthase (CBS), trisomie 21, levure *Saccharomyces cerevisiae*, criblage chimiothèques

### Résumé :

L'enzyme cystathionine  $\beta$ -synthase (CBS), dont le gène est situé sur le chromosome 21, est surexprimée chez les patients atteints du syndrome de Down (ou trisomie 21). Des études réalisées chez des souris transgéniques montrent que la diminution ou l'augmentation du dosage du gène *cbs* induisent des modifications de la capacité d'apprentissage et de mémorisation (données de l'équipe de Yann Hérault, IGBMC, Strasbourg). Ces observations confortent l'hypothèse selon laquelle le niveau d'expression de ce gène serait crucial pour le fonctionnement cognitif et que sa surexpression, du fait de sa triplication, participe au dysfonctionnement intellectuel observé chez les patients atteints de trisomie 21. Des molécules capables d'inhiber l'activité de CBS constitueraient donc des candidats médicaments très intéressants pour améliorer, au moins en partie, les fonctions cognitives des patients. La recherche de ces inhibiteurs pharmacologiques a jusqu'à présent été limitée à des approches *in vitro* qui n'ont pas permis l'identification de composés actifs *in vivo*. De plus, aucune méthode de criblage de chimiothèques en contexte cellulaire eucaryote n'avait encore été décrite.

Nous avons développé un système de criblage phénotypique *in vivo* basé sur la levure *S. cerevisiae* permettant de suivre le niveau d'expression de CBS. Grâce à une méthode de criblage en deux étapes basée sur les connaissances accumulées sur les voies métaboliques dans lesquelles CBS joue un rôle central, seules des molécules inhibant spécifiquement l'activité de CBS peuvent être sélectionnées. Cette approche combine les avantages suivants : (i) d'être simple et peu coûteuse tout en étant spécifique, (ii) de se faire *in vivo* par le suivi d'un phénotype dans un contexte cellulaire eucaryote et (iii) de permettre le criblage de plusieurs milliers voire dizaines de milliers de molécules.

Utilisant ce modèle, nous avons criblé jusqu'à présent deux chimiothèques commerciales Prestwick® et BIOMOL's FDA Approved Drug Library (qui représentent à elles deux environ 2000 molécules déjà en clinique pour des applications très diverses), afin d'identifier des composés capables d'inhiber partiellement l'activité de CBS. Utilisant une méthode rapide et semi-quantitative de criblage en levure que nous avons mise au point (Bach et al, Nat Biotechnol, 2003; Methods, 2006) et avons utilisée régulièrement depuis pour l'étude d'autres pathologies (Couplan et al, PNAS, 2011; Voisset et al, Dis Model Mech, 2014; Aiyar et al, Nat Commun, 2014), nous avons ainsi identifié 4 molécules actuellement sur le marché en tant que médicaments, dont 3 ayant des propriétés chimiques communes. Ces composés sont actuellement en cours de tests chez des souris surexprimant Cbs. S'ils s'avèrent suffisamment actifs contre CBS, nous pourrions ainsi rapidement envisager des stratégies de repositionnement thérapeutique.

## ESSAIS CLINIQUES ET THÉRAPIES

**#3573 : Réduction majeure et durable des mouvements anormaux paroxystiques chez les patients avec déficit en GLUT1 traités par triheptanoïne**

### Auteurs :

Fanny Mochel (1), Elodie Hainque (2), Domitille Gras (3), Isaac Adanyeguh (4), Benedicte Heron (5), Agathe Roubertie (6), Elsa Kaphan (7), Emmanuel Roze (2)

1. Département de Génétique, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France
2. Département des Maladies du Système Nerveux, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France
3. Service de Neuropédiatrie, Hôpital Robert Debré, Paris, France
4. INSERM UMR S1127, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France
5. Service de Neuropédiatrie, Hôpital Armand Trousseau, Paris, France
6. Service de Neuropédiatrie, Hôpital Gui de Chauliac, Montpellier, France
7. Département de Neurologie, Hôpital La Timone, Marseille, France

**Mots clefs :** Déficit en GLUT1, triheptanoïne, métabolisme énergétique cérébral, cycle de Krebs, mouvements paroxystiques, spectroscopie cérébrale

### Résumé :

**Objectifs :** Nous travaillons depuis 12 ans avec la triheptanoïne, un triglycérides à chaîne moyenne et nombre impair de carbones qui apporte des substrats clés au cycle de Krebs, dans des modèles précliniques et cliniques de déficit énergétique. Nous avons souhaité évaluer l'efficacité thérapeutique clinique de la triheptanoïne dans un modèle de déficit énergétique cérébral, le déficit en transporteur cérébral du glucose, GLUT1.

**Méthodes :** Nous avons réalisé une étude pilote en ouvert avec 3 phases de 2 mois chacune (observation, traitement, arrêt du traitement) chez 8 patients (7-47 ans) présentant un déficit en GLUT1 confirmé génétiquement et présentant des mouvements anormaux paroxystiques non-épileptiques. Nous avons utilisé un carnet patient dédié pour recueillir l'ensemble des événements moteurs et non-moteurs paroxystiques. Nous avons également utilisé un protocole de spectroscopie RMN cérébrale au phosphore 31 pour analyser le rapport entre phosphate inorganique et phosphocréatine, précédemment validé chez des témoins, au niveau du cortex occipital pendant (activation) et après (récupération) une activation cérébrale par stimulation visuelle.

**Résultats :** Pendant la phase d'observation, les patients avec déficit en GLUT1 présentaient en moyenne 30.8 ( $\pm 27.7$ ) événements paroxystiques (dont 52% d'événements moteurs). Sous traitement par triheptanoïne, ces événements paroxystiques ont été réduits de façon majeure: 2.8 ( $\pm 2.9$ ) événements dont 76% d'événements moteurs ( $p=0.028$ ) (Mochel et al, J Neurol Neurosurg Psychiatry, sous presse). A l'arrêt du traitement, les manifestations paroxystiques sont réapparues de façon importante avec 24.2 ( $\pm 21.9$ ) événements paroxystiques (dont 52% d'événements moteurs) ( $p=0.043$ ) (Mochel et al, J Neurol Neurosurg Psychiatry, sous presse). Cette réponse clinique s'est accompagnée d'une normalisation du profil énergétique cérébral comme en témoigne la restauration d'une augmentation du rapport Pi/PCr pendant la phase de stimulation visuelle comparativement à la phase de récupération ( $p=0.021$ ) (Mochel et al, J Neurol Neurosurg Psychiatry, sous presse). A l'arrêt du traitement, le profil était à nouveau anormal. A l'issue de ces 3 phases, tous les patients ont souhaité reprendre le traitement par triheptanoïne. Nous sommes à présent à 9 mois de recueil de données cliniques après reprise du traitement. On observe la même réponse thérapeutique clinique sous triheptanoïne qu'initialement, soit seulement 2.7 ( $\pm 4,0$ ) événements paroxystiques (nombre d'événements rapporté à une période de 2 mois).

**Conclusion :** Le traitement par triheptanoïne permet une amélioration durable de 90% des mouvements paroxystiques chez les patients avec déficit en GLUT1 et une normalisation du profil énergétique cérébral. Nous allons à présent débiter une étude internationale de phase 3 chez les patients avec déficit en GLUT1 de façon à obtenir l'enregistrement de la triheptanoïne comme médicament orphelin.

---

# POSTERS

GÉNÉTIQUE CLINIQUE, DÉVELOPPEMENT, FOETOPATHOLOGIE

---

**#2296 : Caractérisation phénotypique de 2 fœtus apparentés atteints de Cutis Laxa de type 1B due à une nouvelle mutation homozygote non-sens du gène FBLN4**

**Auteurs :**

Pascaline LETARD (1), Dorien SCHEPERS (2), Juliette ALBUISSON (3), Patrick BRUNEVAL (4), Emmanuel SPAGGIARI (1), Suonavy KHUNG-SAVATOVSKY (1), Nadia BELARBI (5), Yline CAPRI (6), Anne-Lise DELEZOIDE (1), Bart LOEYS (7), Fabien GUIMIOT (1)

1. Service de biologie du développement, Hôpital Robert Debré, Paris, France
2. Center for Medical Genetics, Antwerp University Hospital, Antwerp, France
3. Département de Génétique, Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris, France
4. Service d'anatomie-pathologie, Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris, France
5. Service de radiologie pédiatrique, Hôpital Robert Debré, Paris, France
6. Service de génétique clinique, Hôpital Robert Debré, Paris, France
7. Center for Medical Genetics, Antwerp University Hospital, Antwerp, Belgique

**Mots clefs :** Cutis Laxa, FBLN4, Mutation non-sens, Perte de fonction, Phénotype sévère, Examen foetopathologique

**Résumé :**

Les mutations du gène *FBLN4* (*EFEMP2*), codant la fibuline-4, une protéine de la matrice extracellulaire, sont responsables de Cutis Laxa autosomique récessive de type 1B (ARCL1B; MIM# 614437). Cette maladie rare est caractérisée par la présence de Cutis Laxa, d'anomalies artérielles, respiratoires et squelettiques. Peu de patients ont été décrits et la sévérité est variable, allant du décès périnatal à une survie de quelques années. Aucun signe échographique anténatal n'a été rapporté. Ici, nous décrivons 2 fœtus: 1 cas-index et 1 récidive, atteints d'une forme particulièrement sévère d'ARCL1B avec signes échographiques visibles au 2<sup>ème</sup> trimestre.

La première grossesse a été marquée par la découverte dès 20 SA d'une malposition des mains et des pieds, d'une déformation de la voûte crânienne, d'une incurvation des os longs, d'une sinuosité aortique, d'un excès de tissus mous au niveau thoracique et d'une probable hernie diaphragmatique. Une interruption médicale de grossesse a eu lieu à 26 SA. L'examen foetopathologique a mis en évidence un fœtus longiligne ayant un cutis laxa, des mains crispées avec clinodactylie et camptodactylie, des pieds bots, une micrognathie, des os wormiens, une déminéralisation osseuse, une incurvation modérée des os longs, des fractures costales d'âges différents, des travées osseuses grêles, une hernie hiatale, des éventrations diaphragmatiques, une dilatation pyélo-calicielle et des tortuosités artérielles avec des parois vasculaires très épaisses contenant de nombreuses cellules musculaires lisses et des fibres élastiques irrégulières. La séquençage de *FBLN4* a abouti à la découverte d'une nouvelle mutation présente à l'état homozygote chez le fœtus et à l'état hétérozygote chez ses parents: c.639C > A (p.Cys213\*). La protéine fibuline-4 correspondante est absente de la matrice extracellulaire de ce fœtus. Un diagnostic prénatal a pu être proposé lors de la 3<sup>ème</sup> grossesse de ce couple. Il a été effectué à 12 SA et il a mis en évidence une récidive d'ARCL1B. L'interruption de grossesse a eu lieu à 18 SA. Le fœtus présentait les mêmes caractéristiques cliniques, radiologiques et histologiques que le cas-index.

Il s'agit de la première description anténatale des signes caractéristiques d'ARCL1B. Le phénotype particulièrement sévère et identique chez les 2 apparentés est la conséquence de la présence à l'état homozygote d'une nouvelle mutation *FBLN4*. C'est la première mutation non-sens retrouvée chez un patient avec ARCL1B, responsable d'une perte totale de fonction de la protéine FBLN4 correspondante qui n'est pas exprimée dans la matrice extracellulaire, entraînant ainsi une pathologie du tissu conjonctif.

**#2325 : Apport du séquençage haut débit d'exome dans les syndromes polymalformatifs fœtaux en pratique diagnostique.**

**Auteurs :**

Mathilde Lefebvre (1), Yannis Duffourd (2), Paul Kuentz (2), Jean-Baptiste Riviere (2), Elise Schaefer (3), Salima El Chehadeh (3), Maria Cristina Antal (4), Daphné Lehalle (1), Nolwenn Jean-Marçais (1), Nicole Laurent (5), Nathalie Marle (6), Lambert Laetitia (7), Bruno Leheup (7), Philippe Jonveaux (8), Bernard Foliguet (9), Jean-Pierre Mazutti (9), Marion Auber-Lenoir (10), Françoise Arbez-Gindre (11), Laurence Faivre (1), Christel Thauvin-Robinet (1)

1. Service de Génétique Médicale, CHU Dijon, Dijon, France
2. équipe GAD EA4271 « Génétique des Anomalies du Développement » (GAD), FHU-TRANSLAD, Université de Bourgogne, Dijon, France
3. Service de Génétique Médicale, CHU de Strasbourg, Strasbourg, France
4. Service d'anatomie Pathologique, CHU de Strasbourg, Strasbourg, France
5. Service d'anatomie Pathologique, CHU Dijon, Dijon, France
6. Service de Cytogénétique, CHU Dijon, Dijon, France
7. Service de Génétique Médicale, CHU de Nancy, Nancy, France
8. Service de Cytogénétique, CHU de Nancy, Nancy, France
9. service de foetopathologie, CHU de Nancy, Nancy, France
10. Service d'imagerie et de radiodiagnostic, CHU de Besançon, Besançon, France
11. Service d'anatomie Pathologique, CHU de Besançon, Besançon, France

**Mots clefs :** Syndromes polymalformatifs, Foetopathologie, séquençage haut débit d'exome

**Résumé :**

Les syndromes polymalformatifs sont définis par l'association de deux malformations ou plus. Dans ces syndromes, le risque de pathologie génétique est élevé, avec un risque de récurrence pour les familles, à l'origine d'une très forte demande de conseil génétique. Actuellement, l'outil central du bilan étiologique est l'examen autopsique foetopathologique. Ce dernier comprend un examen macroscopique et dysmorphologique, un examen macroscopique interne et une analyse histologique des viscères. Des examens paracliniques complètent le travail anatomo-pathologique avec des radiographies du fœtus entier, des dosages métaboliques sur différents tissus et des examens de génétique. A l'issue de ce bilan, plusieurs situations sont possibles : i) l'examen foetopathologique permet des hypothèses diagnostiques et oriente les analyses génétiques ciblées; ii) cet examen ne permet pas de discerner des hypothèses diagnostiques probables et encourage la réalisation d'une étude pan-génomique par puce ADN (ACPA) à la recherche de remaniements chromosomiques. Cette stratégie diagnostique ne permet un diagnostic étiologique que dans environ 1/3 des familles concernées par un syndrome polymalformatif de révélation anténatale. La majorité des couples reste donc sans possibilité de conseil génétique prédictif d'un risque de récurrence et face à de possibles dépistages tardifs de récurrence lors d'une future grossesse.

Pour le diagnostic de pathologies mendéliennes de découverte post-natale, le séquençage haut débit d'exome (SHD-E) a démontré une particulière efficacité. Cette stratégie est adaptée à l'étude de pathologies jusque-là résistantes aux techniques de génétiques conventionnelles telles que les maladies rares, sans récurrence familiale, cliniquement et génétiquement hétérogènes. Dans le contexte du diagnostic de syndromes malformatifs fœtaux, l'apport du SHD-E a été peu évalué. L'objectif de notre étude est donc d'étudier l'apport du SHD-E dans le diagnostic étiologique de 100 fœtus atteints de syndromes polymalformatifs non étiquetés après un examen foetopathologique et radiologique complet, de même qu'une CGH-array normale.

Les résultats préliminaires évaluent le taux diagnostique du SHD-E à 43% (6/14). Des variations causales ont été identifiées dans 4 pathologies de survenue sporadique dont une disomie uniparentale du chromosome 17 (*ARID1A*, *ACE*, *FGFR2* et *NIPBL*) et 2 pathologies de transmission autosomique récessive (*TREX1* et *ERCC2*). Ces résultats ont déjà permis deux diagnostics prénataux pour les 6 familles concernées. Deux variations candidates de gènes non précédemment impliqués en pathologie humaine sont en cours d'étude.

Nos résultats confirment l'apport diagnostique du SHD-E dans les syndromes polymalformatifs fœtaux et soulignent l'importance d'une collaboration étroite entre foetopathologistes, généticiens, biologistes, bioinformaticiens et chercheurs pour l'analyse des données.

**#2339 : A propos d'un nouveau cas fœtal de syndrome de Costello présentant une dystrophie musculaire congénitale avec excès de fuseaux neuromusculaires.**

**Auteurs :**

Chloé Quélin (1), Philippe Loget (2), Céline Rozel (3), Dominique D'Hervé (4), Sylvie Odent (1), Laurent Pasquier (5), Florence Démurger (1), Mélanie Fradin (1), Gwénaelle Lebouar (6), Héliène Cavé (7), Pascale Marcorelles (8)

1. Génétique Clinique, CHU Hôpital Sud, Rennes, France
2. Anatomopathologie, CHU Pontchaillou, Rennes, France
3. Radiologie et Imagerie Médicale, CHU Hôpital Sud, Rennes, France
4. Gynécologie-Obstétrique, Clinique La Sagesse, Rennes, France
5. Génétique Clinique, CHU Hôpital sud, Rennes, France
6. Centre pluridisciplinaire de diagnostic prénatal, CHU Hôpital Sud, Rennes, France
7. Génétique Moléculaire, APHP, Robert-Debré, Paris, France
8. Anatomopathologie, CHU Hôpital Morvan, Brest, France

**Mots clefs :** Costello, Foetopathologie, Dystrophie musculaire

**Résumé :**

Introduction : Le syndrome de Costello est une pathologie appartenant au spectre des « rasopathies », se caractérisant en post-natal par l'association d'une dysmorphie faciale caractéristique, d'anomalies cutanées, de malformations cardiovasculaires, de difficultés alimentaires majeures, d'un retard de croissance post-natal sévère, d'une déficience intellectuelle et d'un risque tumoral. En prénatal, les manifestations fœtales sont peu spécifiques et inconstantes, avec essentiellement une clarté nucale augmentée et un hydramnios. Plus récemment des dystrophies musculaires avec excès de fuseaux neuromusculaires (FNM) ont été rapportées chez certains patients atteints d'un syndrome de Costello confirmé sur le plan moléculaire. Des mutations du gène *HRAS* sont identifiées dans plus de 85% des cas de syndrome de Costello, essentiellement dans l'exon 2, la plus fréquente étant p.Gly12Ser (80 à 90% des cas). Des corrélations génotype-phénotype commencent à émerger : la mutation p.Gly12Ser entraînerait un phénotype classique alors que des mutations plus rares (p.Gly12Cys, p.Gly12Asp ou p.Gly12Val) seraient responsables de formes sévères avec létalité précoce.

Cas clinique : Nous rapportons un nouveau cas fœtal de syndrome de Costello avec excès de FNM lié à une mutation *de novo* dans le gène *HRAS* (c.35G > T ; p.Gly12Val). La grossesse a été interrompue à 30 SA et 2 jours pour hydramnios et arthrogrypose distale. A l'autopsie le fœtus présentait une anasarque, une dysmorphie, une arthrogrypose distale, une répartition anormale des graisses, une hépatomégalie et une myopathie de type dystrophie musculaire congénitale avec excès de FNM justifiant l'étude du gène *HRAS*.

Discussion/ conclusion : Ce nouveau cas confirme l'importance de la biopsie musculaire lors de l'examen foetopathologique dans des contextes d'anasarque / arthrogrypose distale et renforce l'hypothèse de corrélations génotype-phénotype pour les mutations du gène *HRAS* avec en particulier des formes néonatales sévères avec myopathie par excès de FNM associées à la mutation p.Gly12Val.

**#2358 : Absence de retard de croissance dans le syndrome de Kabuki : à propos de quatre patients tunisiens**

**Auteurs :**

houweyda jilani (1), imen rejeb (1), yasmina elaribi (2), Syrine Hizem (2), Soumaya Bourgou (3), ahlem belhadj (4), lamia ben jema (2)

1. service des maladies congénitales et héréditaires, hopital mongi Slim, tunis, Tunisie
2. service des maladies congénitales et héréditaires, hopital mongi Slim , tunis, Tunisie
3. service de pédopsychiatrie , hopital mongi Slim, tunis, Tunisie
4. service de pédopsychiatrie , hopital mongi Slim , tunis, Tunisie

**Mots clefs :** dysmorphie faciale, retard mental, anomalies congénitales, retard de croissance

**Résumé :**

Le syndrome de Kabuki est un syndrome génétique rare dont la prévalence est estimée à 1/32000 et qui associe un retard mental variable, des anomalies congénitales et un retard de croissance post-natal. La dysmorphie faciale est très caractéristique avec un aspect maquillé des yeux.

Nous rapportons les cas de quatre patients dont deux frères jumeaux ayant un syndrome de Kabuki. Le diagnostic était essentiellement clinique. Un retard mental a été retrouvé dans un cas, une hyperactivité dans un cas et des troubles autistiques chez les jumeaux. Les quatre patients avaient un faciès aplati, des fentes palpébrales larges et obliques en bas et en dehors, une éversion du tiers inférieur de la paupière inférieure, des cils longs et épais, une columelle courte et des dents anormalement implantées. La croissance staturo-pondérale était normale chez tous les patients. L'examen des organes génitaux externes a objectivé un micropénis chez un patient et une cryptorchidie unilatérale chez un autre. Le caryotype était normal.

Le retard de croissance est un signe très fréquent dans le syndrome de Kabuki, décrit dans près de 80% des cas. Son absence n'exclut pas le diagnostic qui se base essentiellement sur la dysmorphie faciale et les troubles du comportement. L'étude moléculaire des gènes *KMT2D* et *KDM6A* permet de confirmer le diagnostic chez les patients à tableau clinique incomplet.

**#2370 : Etiologies des retards psychomoteurs chez les enfants au CNHU de Cotonou au BENIN**

**Auteurs :**

MAROUFOU JULES ALAO (1), Gratien SAGBO (2), BLAISE AYIVI (2)

1. Pédiatrie, CHU de la Mère et de l'Enfant Lagune de Cotonou, Cotonou, Bénin
2. Pédiatrie, CNHU Cotonou, Cotonou, Bénin

**Mots clefs :** retard psychomoteur, asphyxie périnatale, syndrome de Down, ictère néonatal, prévention

**Résumé :**

**Introduction**

Les retards psychomoteurs sont très peu étudiés dans les pays en développement à cause du poids des maladies transmissibles notamment infectieuses. La connaissance des étiologies de ces retards permet d'assurer une prévention. L'objectif de cette étude était de rechercher les étiologies des retards psychomoteurs chez les enfants reçus en consultation de génétique médicale de 2005 à 2014.

**Méthode**

Chaque enfant bénéficiait d'un examen clinique avec évaluation psychométrique basée sur les six repères psychomoteurs de l'Organisation Mondiale de la Santé, un examen physique et une analyse dysmorphologique. Un bilan paraclinique fait d'un caryotype standard systématique complété par la recherche de mutation en cas de suspicion d'une maladie monogénique. La prise en charge consistait en un suivi médical systématique et régulier avec l'offre des soins paramédicaux de psychothérapie, d'orthophonie et de kinésithérapie selon les besoins.

**Résultats**

Sur les 455 enfants reçus en consultation, 206 présentaient un retard psychomoteur avec 58% de retard global et 42% de retard mental. La sex ratio était de 1,39. Les motifs de consultation étaient le retard psychomoteur (38,02%), la dysmorphie faciale (30,11%) et les malformations (25,05%). Dix cas d'autisme vrai avaient été relevés sur un total de 31 cas de traits autistiques. Les principales étiologies retrouvées étaient l'asphyxie périnatale (48,5%), le syndrome de Down (29,1%) et l'ictère néonatal (14,5%).

**Conclusion**

Les principales causes retrouvées peuvent être prévenues si des mesures idoines étaient prises.

**#2380 : Association of Dandy-Walker Complex and Beckwith-Wiedemann syndrome due to ICR2/CDKN1C defects**

**Auteurs :**

Perrine Pennamen (1), Martin Catala (2), Pascale Marcorelles (3), Claire Beneteau (4), Sophie Blesson (5), Isabelle Coupier (6), Yline Capri (7), Zarrin Alavi (8), Frédéric Brioude (9), Séverine Audebert (10)

1. Laboratoire Maladies Rares - Génétique et Métabolisme , CHU Bordeaux, Bordeaux, France
2. Fédération de Neurologie, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France
3. Service D'anatomie Pathologique, CHRU Brest, Brest, France
4. Département de Génétique, Hôpital Universitaire de Nantes, Nantes, France
5. Service de Génétique, CHU de Tours, Tours, France
6. Service de Génétique Médicale, Unité d'oncogénétique, CHU Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
7. UF de Génétique Clinique, CHU Robert Debré, Paris, France
8. INSERM, CIC 1412, Brest Medical University Hospital, Brest, France
9. Explorations Fonctionnelles Endocriniennes, AP-HP, Hôpital Armand Trousseau, Paris, France
10. Service de Génétique Médicale, CHRU Brest, Brest, France

**Mots clefs :** Beckwith-Wiedemann, Dandy-Walker, Fosse Postérieure, empreinte, 11p15.5, corrélation génotype-phénotype

**Résumé :**

Le syndrome de Beckwith-Wiedemann (BWS) est un syndrome d'hypercroissance bien décrit, lié à une importante hétérogénéité clinique et génétique. Le complexe de Dandy-Walker (DWC) est un terme regroupant des anomalies de fosse postérieure telle que la malformation de Dandy-Walker (DWM) classique et des variants du même spectre. Nous présentons les caractéristiques phénotypiques et génotypiques de six fœtus et deux patients vivants présentant un BWS et une anomalie du DWC.

Tous les patients présentent une omphalocèle. Tous les fœtus ont une cytomégalie surrénalienne bilatérale. Les deux patients vivants ont une intelligence normale, l'un étant adulte. Tous nos cas ont une anomalie moléculaire du domaine centromérique de la région 11p15.5 identifiée chez eux ou un parent au premier degré. Il s'agit d'une perte de méthylation ICR2 sporadique et sept mutations *CDKN1C* avec histoire familiale. La récurrence familiale de l'association BWS et DWC est confirmée pour deux familles. Dans 3 autres familles il y a des cas de BWS mais sans anomalie cérébrale documentée.

Nos cas, ainsi que 8 autres rapportés précédemment, sont en faveur d'une association entre BWS et DWC. Tous sont liés à des anomalies génétiques ou épigénétiques du domaine centromérique de la région 11p15.5. Cette association est renforcée par des modèles murins avec inactivation sélective cérébrale de *Cdkn1c* qui présentent des anomalies cérébelleuses. Une confirmation génétique du BWS est importante pour organiser la surveillance des enfants et pour le conseil génétique des couples et leurs apparentés avec un risque de récurrence de 50% en cas de mutation *CDKN1C* héritée de la mère. Cependant les données sont insuffisantes pour évaluer le pronostic intellectuel et global de ces patients.

#2381 : Diagnostic des ataxies héréditaires par analyse de « mini-exome »

**Auteurs :**

Claire Guissart (1), Jean-Philippe Villemin (2), Lise Larrieu (3), Michel Koenig (1)

1. Equipe d'Accueil EA7402, Institut Universitaire de Recherche Clinique, Université de Montpellier, CHU Montpellier, Montpellier, France
2. Equipe d'Accueil EA7402, Institut Universitaire de Recherche Clinique, Université de Montpellier, Montpellier, France
3. Equipe d'Accueil EA7402, Institut Universitaire de Recherche Clinique, CHU Montpellier, Montpellier, France

**Mots clefs :** ataxie, trusight one, mini-exome, CNV, expansion CAG, SCA

**Résumé :**

Les ataxies cérébelleuses sont un groupe hétérogène de maladies neurodégénératives rares pour lesquelles le diagnostic génétique n'est pas établi dans près d'un cas sur deux en raison du chevauchement phénotypique des très nombreuses formes d'ataxies, de la disponibilité limitée du séquençage d'exome et du faible rendement diagnostique de l'analyse séquentielle des gènes par séquençage classique. Dans cette étude, nous avons analysé 45 patients atteints d'ataxie cérébelleuse (négatifs pour l'ataxie de Friedreich) par séquençage haut débit à l'aide du kit TruSight One (Illumina, « mini-exome ») selon une stratégie permettant plusieurs niveaux d'analyse complémentaires : (1) étude du panel ciblé de 117 gènes d'ataxie, (2) extension de l'étude aux autres gènes de maladie neurodégénérative disponibles dans le mini-exome, (3) recherche de grands réarrangements, (4) recherche des expansions de triplets CAG pour certaines ataxies spinocérébelleuses dominantes (SCA1, 2, 3 et 6). Grâce à cette stratégie, nous avons obtenu un rendement diagnostique de 40% en faisant évoluer notre panel ciblé de manière flexible en fonction des recherches bibliographiques et de nos propres résultats, augmentant ainsi la liste du panel ciblé à un total de 142 gènes. Parmi les diagnostics positifs, 22% impliquaient des gènes hors panel initial (*HSD17B4*, *ERCC4*, *ELOVL4*) et 33% étaient des gènes à transmission dominantes (*PRKCG*, *KCNC3*, *PDYN*, *ATXN2*, *ELOVL4*). Le gène à transmission autosomique récessive *SETX* était majoritairement représenté avec 28% des cas positifs, suivi des gènes *ERCC4*, *NPC1*, *PRKCG* et *PDYN* (11% chacun). Nous avons également détecté par analyse bio-informatique puis confirmé par PCR et séquençage du fragment de jonction la présence d'une délétion de 4 exons et d'une duplication de 5 exons dans le gène *SETX* chez deux patients. Enfin, l'utilisation de l'outil bioinformatique LobSTR associé à un pipeline d'alignement spécifique nous a permis de confirmer un cas d'ataxie dominante (SCA2) lié à la présence d'une expansion de 42 CAG dans le gène *ATXN2*.

En conclusion, notre stratégie d'analyse nous permet d'obtenir un rendement diagnostique des ataxies comparable aux analyses d'exome complet décrites dans la littérature et nous permet en outre une flexibilité appréciable en étendant le spectre phénotypique de plusieurs maladies neurodégénératives. De plus, les résultats obtenus pour la détection d'expansion de triplets offrent des perspectives encourageantes pour le diagnostic des SCA par séquençage haut débit.

**#2382 : Intérêt du séquençage haut débit dans l'identification de formes atypiques de gènes OMIM connus: l'exemple de CUI4B**

**Auteurs :**

Mathilde Lefebvre (1), Dominique Martin-Coignard (2), Jean-Baptiste Riviere (3), Yannis Duffourd (3), Julien Thevenon (1), Christel Thauvin-Robinet (1), Claire Redin (4), Jean-Louis Mandel (5), Candace Ben Signor (6), Amélie Piton (5), Laurence Faivre (1)

1. Service de Génétique Médicale, CHU Dijon, Dijon, France
2. Service de Génétique Médicale, CH Le Mans, Le Mans, France
3. equipe GAD EA4271 « Génétique des Anomalies du Développement » (GAD), FHU-TRANSLAD, Université de Bourgogne, Dijon, France
4. Département de Médecine translationnelle et Neurogénétique, IGBMC, CNRS UMR 7104/INSERM U964/Université de Strasbourg, Illkirch, , France
5. Département de Médecine translationnelle et Neurogénétique, IGBMC, CNRS UMR 7104/INSERM U964/Université de Strasbourg, Illkirch, Strasbourg, France
6. Service de pédiatrie, CHU Dijon, Dijon, France

**Mots clefs :** CUL4B , reverse phenotyping, séquençage haut débit, phénotypes atypiques

**Résumé :**

La déficience intellectuelle (DI) a une incidence de 2% dans la population générale et est plus fréquente chez l'homme. Des mutations au sein de *CUL4B*, un gène codant pour un membre du complexe cullin-RING, ont été identifiées dans le syndrome de Cabezas correspondant à une forme de DI liée à l'X associée à des crises d'agressivité, des convulsions, un hypogonadisme et une dysmorphie. A ce jour, 35 patients de sexe masculin ont été rapportés avec une mutation dans *CUL4B*, tous les cas index ont été diagnostiqués après l'âge de la puberté, l'hypogonadisme étant le seul signe distinctif. Nous rapportons ici 3 nouveaux patients de 2 familles présentant 2 nouvelles mutations *CUL4B*, diagnostiqués grâce aux techniques de séquençage haut débit (SHD) d'exome ou par panel de gènes à un âge plus jeune (de 4 à 19 ans). La première famille présentait une mutation non-sens c.1450C>T / p.484Arg\* héritée de la mère, la deuxième famille une mutation frameshift c.811\_812del / p.Gln271Aspfs\*11 *de novo*. Les patients présentaient des signes confondants, comprenant l'association une hétérochromie irienne - surdité neurosensorielle - dépigmentation localisée de la peau chez un patient suggérant un syndrome de Waardenburg, une ischémie médullaire chez son frère, et une cardiomyopathie hypertrophique dans la petite enfance chez un 3<sup>ème</sup> enfant. Tous présentaient un retard psychomoteur moyen à sévère, une macrocéphalie et une dysmorphie faciale. Chez 2 patients, on retrouvait également une petite taille, une obésité, une cyphoscoliose, des convulsions. Un hypogonadisme n'était connu que chez le patient le plus âgé, et retrouvé chez son frère après phénotypage réverse. Du fait des facteurs confondants et d'un âge trop jeune du cas index dans une famille, le diagnostic du syndrome de Cabezas n'a pas été évoqué et a été diagnostiqué grâce au SHD. En conclusion, ces observations démontrent l'intérêt de l'utilisation du SHD lorsque les circonstances cliniques ne permettent pas au clinicien de porter le diagnostic d'un syndrome, et l'importance du phénotypage réverse pour confirmer les résultats.

**#2383 : Indications cliniques et radiologiques du séquençage ciblé dans les dysostoses spondylo-costales.**

**Auteurs :**

Mathilde Lefebvre (1), Judith Saint Onge (2), Bérénice Doray (3), Christine Francannet (4), Lucile Pinson (5), Tania Attié-Bittach (6), Clarisse Baumann (7), Mélanie Fradin (8), Geneviève Pierquin (9), Sophie Julia (10), Chloé Quelin (11), Catherine Vincent-Delormes (12), Lambert Laetitia (13), Didier Lacombe (14), Bertrand Isidor (15), Joelle Roume (16), Patricia Blanchet (5), Sylvie Odent (8), Dominique Kervran (17), Leporrier Nathalie (18), Carine Abel (19), Karin Segers (9), Fabienne Guiliano (20), Genevieve Baujat (21), Emmanuelle Ginglinger-Fabres (22), Anne Dieux-Coselier (12), Angelo Selicorni (23), Alice Goldenberg (24), Anna Faccadenti (25), Salima El Chehadeh (26), Jean-Baptiste Riviere (2), Laurence Faivre (1), Valérie Cormier-Daire (27), Julien Thevenon (1)

1. Service de Génétique Médicale, CHU Dijon, Dijon, France
2. equipe GAD EA4271 « Génétique des Anomalies du Développement » (GAD), FHU-TRANSLAD, Université de Bourgogne, Dijon, France
3. Service de Génétique Médicale, CHU de la Reunion - Hôpital Felix Guyon, Saint Denis, France
4. Service de Génétique Médicale, CHU de Clermont-Ferrand, Clermont Ferrand, France
5. Service de Génétique Médicale, CHRU de Montpellier, Montpellier, France
6. Service d'histologie, embryologie et cytogénétique, CHU Paris - Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
7. Service de Génétique Médicale, CHU Paris - Hôpital Robert Debré, Paris, France
8. Service de Génétique Médicale, CHU de Rennes, Rennes, France
9. Service de Génétique Médicale, CHU Sart Tillman - Liège, Liège, Belgique
10. Service de Génétique Médicale, Hôpital PURPAN, Toulouse, France
11. service de foetopathologie, CHU de Rennes, Rennes, France
12. Service de Génétique Médicale, CHRU de Lille - Hôpital Jeanne de Flandre, Lille, France
13. Service de Génétique Médicale, CHU de Nancy, Nancy, France
14. Service de Génétique Médicale, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France
15. Service de Génétique Médicale, CHU de Nantes, Nantes, France
16. Service de Génétique Médicale, CHI Poissy-Saint-Germain-en-Laye, Poissy, France
17. Service de Génétique Médicale, CHR Orléans, Orléans, France
18. Service de Génétique Médicale, CU de Caen, Caen, France
19. Service de Génétique Médicale, CHU de Lyon, Lyon, France
20. Service de Génétique Médicale, CHU de Nice, Nice, France
21. Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU Paris - Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
22. Service de Génétique Médicale, Hopital Emile Muller, Mulhouse, Mulhouse, France
23. Service de pédiatrie, Ambulatorio di Genetica Clinica Pediatrica, Italia, Monza, Italie
24. Service de Génétique Médicale, CHU de Rouen - Hôpital Charles Nicolle, Rouen, France
25. Sezione di Clinica Pediatrica , Ospedali Riuniti "Umberto I - G.M. Lancisi - G. Salesi" - Presidio "G. Salesi", ANCONA, Italie
26. Service de Génétique Médicale, CHU de Strasbourg, Strasbourg, France
27. Institut de Recherche Necker Enfants Malades, CHU Paris - Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France

**Mots clefs :** dysostoses spondylo-costales, séquençage ciblé, critères diagnostics

**Résumé :**

La mise en évidence d'une anomalie de segmentation (ASV) est relativement fréquente dans un bilan malformatif. Parmi les ASV, les dysostoses spondylo-costales (DSC) sont radiologiquement définies par de multiples ASV affectant au moins 10 niveaux contigus associées à des anomalies costales globalement symétriques. Les caractéristiques cliniques des DSC comprennent un tronc court proportionnellement à la taille du patient, un cou court et une scoliose non progressive. A ce jour, 5 gènes sont connus pour causer des DSC : *DLL3*, *MESP2*, *LFNG*, *HES7* and *TBX6*. Les données de la littérature suggèrent que ces gènes seraient responsables d'environ 25% des cas de DSC.

Notre objectif était d'identifier les critères cliniques et radiologiques des ASV devant orienter vers un séquençage ciblé de ces gènes avec un rendement diagnostique satisfaisant. Ce travail repose sur un recrutement national de patients adressés suite à un diagnostic d'ASV multi-étagées et pour le séquençage des gènes connus. Les parties codantes des gènes : *DLL3*, *MESP2*, *LFNG*, *HES7* and *TBX6* ont été séquençées grâce au protocole

NexteraXT sur un séquenceur MiSeq (Illumina). Les données cliniques et les clichés radiographiques ont été demandés *a posteriori* auprès de leur clinicien référent.

Cinquante-six patients ont été recrutés sur une période de 3 ans. Les informations cliniques manquaient pour 10 cas. Le rendement diagnostique global était de 12,5% (8/56). Globalement, 28/46 patients présentaient des malformations viscérales associées aux ASV. Dans ce sous-groupe, aucun patient ne présentait de mutation pour les gènes testés. Parmi les 18 patients présentant des ASV isolées, 10 patients remplissaient le critère diagnostique de DSC. Dans ce sous-groupe, les 8 patients mutés de la cohorte ont été identifiées avec l'implication de *DLL3* (2 patients), *LFNG* (2 patients), *TBX6* (2 patients), *HES7* (1 patient) et *MESP2* (1 patient). Dans ce sous-groupe, le rendement diagnostique peut être estimé à 80% (8/10). A posteriori, les radiographies des patients porteurs de mutations dans les différents gènes peuvent se différencier et sont très proches des descriptions classiques publiées. Parmi 18 patients sans malformation associée ne remplissant pas les critères diagnostiques de DSC, deux délétions 16p11.2 comprenant *TBX6* ont été identifiées.

Dans cette cohorte, le rendement diagnostique global était de 12,5%. Une sélection des patients présentant au moins 10 niveaux d'ASV et sans malformation viscérale associée aurait amélioré le rendement diagnostique à 80% (8/10). Bien que les mutations au sein de *DLL3* et de *MESP2* peuvent être pressenties sur l'aspect radiographique de la DSC, celui des mutations *TBX6* et *LFNG* n'est pas caractéristique car il n'existe qu'une seule famille publiée pour chacun d'entre eux. En conclusion, nos résultats suggèrent que le séquençage ciblé doit être préféré pour les cas remplissant les critères cliniques de DSC.

**#2407 : Syndrome Progéroïde, déficience intellectuelle, cutis laxa due à une mutation homozygote du gène PYCR1**

**Auteurs :**

Abdelkrim SAADI (1), Saadia LOUGANI (1), Amel DAIDI (1), Belaid AIT ABDELKADER (2), Lamine MOUSSA (1), Soulaïmane MAHOUI (1), Malika CHAOUCH (1), Davor LESSEL (3), Myriam ABADA-BENDIB (1)

1. neurologie, établissement hospitalier spécialisé de Ben-aknoun, ALGEIRS, Algérie
2. laboratoire de cytogénétique , Centre Pierre Marie Curie, ALGEIRS, Algérie
3. Institute of Human Genetics , University of Ulm, ulm, Allemagne

**Mots clefs :** cutis laxa ,aspect progéroïde ,déficience intellectuelle, autosomique récessive, PYCR1

**Résumé :**

Le cutis laxa est une affection du tissu conjonctif le plus souvent héréditaire .Les formes récessives de cutis laxa (ACRL) sont les plus fréquentes. Le type ACRL2 est moins sévère que le type ACRL1 ,est caractérisé par une peau ridée associée ou non à des anomalies squelettiques et du développement. D'autres entités comme le syndrome de Barys (DBS), Wrinkly skin syndrome (WSS), geroderma osteodysplastica (GO) présentent des phénotypes qui se chevauchent avec l'ACRL2. Le gène PYCR1 est impliqué dans l'ACRL2B , code pour une enzyme mitochondriale qui catalyse la dernière étape de la synthèse de la proline et réduit la pyrroline-5-carboxylate d'éthyle (P5C) de L-proline en utilisant comme NADH cofacteur et s'exprime fortement dans les os et la peau.

Nous rapportons l'observation d'un garçon âgé de 3ans né de parents apparentés avec un petit poids de naissance,une hypotonie ,une luxation de hanche . Il a présenté un retard psychomoteur .L'examen montre un aspect progéroïde avec un visage triangulaire, une microcéphalie , un cutis laxa au niveau du dos des mains et des pieds . Le séquençage du gène PYCR1 met en évidence une mutation homozygote faux sens (R119C).

Comparativement aux patients porteurs de la même mutation ,le phénotype est presque identique avec en plus chez notre patient la présence d'une hypoplasie du corps calleux à l'IRM et l'absence d'ostéopénie. Devant l'hétérogénéité clinique et génétique des cutis laxa héréditaires le diagnostic exact est essentiel afin de fournir un conseil génétique adapté .

**#2435 : Séquençage massif d'un « panel restreint de gènes » dans les encéphalopathies épileptiques inexplicées : quand le clinicien a encore sa place**

**Auteurs :**

Simon Garinet (1), Bertrand Diebold (1), Nathalie Carion (1), Jean Claude Barbot (1), Jerome Le Bozec (1), Laurence Cuisset (1), Thierry Bienvenu (2)

1. Laboratoire de Génétique et Biologie Moléculaire, HUPC, Hôpital Cochin, Paris, France
2. Inserm, U1016, Institut Cochin, et Cnrs, UMR8104, Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, Paris, France

**Mots clefs :** séquençage, NGS, encéphalopathie épileptique, CDKL5, STXBP1

**Résumé :**

La déficience intellectuelle (DI) est un trouble neurologique ayant un impact majeur en santé publique, et dont la prévalence chez les enfants d'âge scolaire est estimée à 3%. A ce jour, plus de 400 gènes ont été impliqués de manière formelle. Cette grande hétérogénéité génétique complique considérablement le diagnostic étiologique de la DI et le conseil génétique qui s'en suit. Le développement récent des technologies de séquençage massif a changé la donne puisqu'il est possible de séquencer la totalité des régions codantes des gènes du génome, voir même la totalité des séquences géniques. Si ces dernières approches ont montré leur puissance pour l'identification de nouveaux gènes, elles restent souvent inadaptées au diagnostic en termes de temps d'analyse, de coût et d'égalité des chances sur l'ensemble du territoire national. Une alternative consiste ainsi à réduire l'analyse à un nombre limité de gènes afin d'exclure rapidement et à un moindre coût les causes génétiques les plus fréquentes. Des stratégies basées sur l'analyse simultanée de 40 à 400 gènes ont ainsi été développées par différentes équipes et se sont heurtées à un délai de rendu de résultat non satisfaisant. Afin d'améliorer le diagnostic et d'orienter plus rapidement les analyses vers des études exome ou génome entier, nous avons étudié la pertinence et la performance du séquençage massif à l'aide de la stratégie Ampliseq sur séquenceur Ion Torrent PGM® (Life technologies) (puce Ion-316) d'un panel de gènes (*CDKL5*, *FOXG1*, *MBD5*, *MEF2C*, *MECP2*, *IQSEC2*, *KIAA1279*, *SLC9A6*, *STXBP1*, *TCF4*, *UBE3A*) destiné aux individus présentant une encéphalopathie épileptique (EE) précoce idiopathique. 13,5% des individus avec EE présentaient une mutation pathogénique (14/103 ; 6 *STXBP1* c.79dup, c.200\_201del, c.875G > A (R292H), c.558C > G (Tyr186\*), c.683C > T (S228F), c.733C > T (H245Y), 3 *CDKL5* c.200T > C (L67P), c.454T > C (C152R), c.1455\_1460del, 2 *IQSEC2* c.2096G > A (R699Q), c.344C > T (S115L), 2 *FOXG1* c.256\_257del, c.529A > C (K177Q), 1 *MECP2* c.1164\_1207del). Ce résultat chute à 1,3% chez des patients présentant une déficience intellectuelle syndromique ou non, non épileptique, avec ou sans troubles du comportement autistique (1/77 ; 1 *UBE3A*, c.1684G > A (G562K)). Nos résultats démontrent clairement que le taux de positivité du séquençage de panels restreints de gènes est dépendant de la qualité du phénotypage clinique des individus, et que l'orientation clinique initiale reste primordiale afin de réduire les coûts et le délai de rendu des résultats positifs et négatifs.

#2499 : Phénotype typique d'encéphalopathie épileptique liée à une mutation du gène *ATP1A3* : un troisième cas.

**Auteurs :**

Pauline Marzin (1), Pauline Marzin (1), Louis Dufour (1), Cyril Mignot (1), Gaetan Lesca (2), Christel Depienne (1), Boris Keren (1), Caroline Nava (1), Diane Doummar (3), Nathalie Dorison (3), Delphine Heron (1)

1. Département de Génétique et Cytogénétique, Hôpital universitaire de la Pitié-Salpêtrière, Paris, France
2. Service de Génétique, CHU Lyon, Lyon, France
3. Services de Neuropédiatrie, Groupe Hospitalier Trousseau, Paris, France

**Mots clés :** *ATP1A3*, encéphalopathie épileptique, épilepsie à début précoce, Séquençage haut débit, pompe Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPase

**Résumé :**

Les mutations hétérozygotes dans le gène *ATP1A3*, codant pour la sous-unité  $\alpha 3$  de la pompe Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPase, sont décrites dans trois grandes entités cliniques : le syndrome dystonie-Parkinson à début rapide, l'hémiplégie alternante du nourrisson, le syndrome CAPOS (Cerebellar ataxia, Areflexia, Pes cavus, Optic atrophy, Sensorineural hearing loss). Le séquençage de nouvelle génération a récemment permis de mettre en évidence des mutations *ATP1A3* chez deux patients ayant un phénotype atypique comprenant des phénomènes paroxystiques dès les premiers mois de vie, de nature épileptique et non épileptique, notamment des apnées prolongées, une microcéphalie post-natale et un retard de développement sévère.

Nous décrivons ici un enfant de 15 ans présentant dès six semaines de vie différents épisodes paroxystiques, accentués par les événements infectieux, une hypotonie axiale et un retard de développement. On observe des crises sémiologiquement très variées, y compris toniques, tonico-cloniques, apnéiques, des malaises avec hypotonie et pâleur, avec de nombreux états de mal. Un seul épisode d'hémi-parésie post-critique a été relevé. Certaines étaient de nature épileptique, d'autres non (sans modification de l'EEG). L'évolution a été marquée par une déficience intellectuelle sévère (non acquisition de la marche et du langage), un nystagmus sans syndrome cérébelleux, une grande hypotonie axiale, une normocéphalie, des stéréotypies.

La mutation p.Asp742Tyr de novo, non décrite jusqu'à présent, a été identifiée par séquençage haut débit dans le gène *ATP1A3*.

Cette observation confirme l'existence d'un phénotype lié à *ATP1A3* très précoce avec des phénomènes paroxystiques épileptiques et non épileptiques au premier plan et un développement très altéré. La co-existence d'épisodes épileptiques prouvés et d'épisodes non épileptiques est un indice pour évoquer le diagnostic.

**#2504 : Anomalie de Klippel-Feil et avance de l'âge osseux chez une patiente atteinte de syndrome de Wiedemann-Steiner**

**Auteurs :**

Alexandra Petit (1), Michèle Mathieu-Dramard (1), Florence Jobic (1), Guillaume Jedraszak (2), Henri Copin (2), Anne-Gaëlle Le Moing (3), Karine Braun (4), Rolph Pfundt (5), Gilles Morin (1)

1. Service de Génétique Clinique et Oncogénétique, CHU Amiens, Amiens, France
2. Laboratoire de Cytogénétique et Biologie de la Reproduction, CHU Amiens, Amiens, France
3. Service de Neurologie Pédiatrique, CHU Amiens, Amiens, France
4. Service d'Endocrinologie Pédiatrique, CHU Amiens, Amiens, France
5. Department of Human Genetics, Radboud University Medical Center, Nijmegen, Pays-Bas

**Mots clefs :** Wiedemann-Steiner, Klippel-Feil, avance de l'âge osseux, hypertrichose, *KMT2A*

**Résumé :**

Le syndrome de Wiedemann-Steiner (MIM#605130) est une pathologie rare de transmission autosomique dominante décrite en 1985 par Wiedemann et en 2000 par Steiner. Il associe une dysmorphie faciale caractéristique (hypertélorisme, épicanthus, obliquité anti-mongoloïde de fentes palpébrales étroites, sourcils épais, lèvres fines), une petite taille, une hyperpilosité des bras (particulièrement des coudes), des jambes et du dos, et une déficience intellectuelle de sévérité variable. Une avance de l'âge osseux et des anomalies rénales sont parfois rapportées. Le syndrome est dû à des mutations hétérozygotes du gène *KMT2A* (initialement appelé *MLL*), localisé en 11q23.3 et codant pour une histone méthyltransférase jouant un rôle important dans le développement précoce et l'hématopoïèse.

Nous rapportons l'observation d'une fillette âgée de 5 ans ayant un morphotype évocateur, une hypertrichose, une petite taille, une avance de l'âge osseux et un retard psychomoteur. Elle présente une fusion C2-C3 responsable d'un syndrome de Klippel-Feil révélée par des épisodes de blocages cervicaux dès la première année de vie. Son diagnostic est confirmé par l'identification d'une mutation hétérozygote non-sens de *KMT2A* jamais encore rapportée : c.292C > A (p.Ser90).

#2511 : Variabilité phénotypique chez les hétérozygotes composites Cys282Tyr/His63Asp du gène HFE :  
analyse de cinq variations de séquence dans une cohorte de 342 sujets du sud de la France.

**Auteurs :**

Gaëlle TACHON (1), Marie-Paule ROTH (2), Céline BESSON (2), Fabienne CALCOEN (3), Muriel GIANILY-BLAIZOT (3), Mickael BISMUTH (3), Jean-Francois SCHVED (3), Patricia AGUILAR MARTINEZ (3)

1. Laboratoire de Cancérologie Biologique, CHRU de Poitiers , Poitiers , France
2. INSERM U563 , Centre de Physiopathologie de Toulouse-Purpan, Toulouse, France
3. Laboratoire d'hématologie, CHRU de Montpellier, Hôpital Saint Eloi, Montpellier, France

**Mots clefs :** Hémochromatose, Hétérozygote composite, GNPAT, rs11558492, CYBRD1, rs884409, Surcharge en fer

**Résumé :**

La signification pathologique du génotype hétérozygote composite pour la mutation Cys282Tyr et le variant His63Asp du gène *HFE* (sujets YD) est encore à ce jour controversée. Certains auteurs le classent comme un génotype à risque d'hémochromatose, tandis que d'autres l'excluent de ce champ et considèrent que la surcharge en fer observée chez une partie de ces sujets est liée à des facteurs acquis. Ce travail vise à identifier des facteurs génétiques capables de modifier le phénotype, permettant d'expliquer la pénétrance et la variabilité phénotypique de l'hémochromatose chez les sujets YD.

Afin de déterminer chez les sujets YD lesquels constituent un groupe à risque de développer une maladie sévère, nous avons testé cinq SNPs (*Single Nucleotide Polymorphism*) chez 342 patients YD caucasiens du sud de la France. Ces SNPs, localisés dans différents gènes impliqués dans le métabolisme du fer ont été décrits comme modificateurs de la surcharge en fer par des études antérieures. Les SNP testés sont situés dans les gènes *TMPRSS6* (rs855791 et rs4820268), *TF* (rs3811647), *CYBRD1* (rs884409) et *GNPAT* (rs11558492). Ce dernier gène a été récemment associé à des variations d'expression clinique chez les sujets homozygotes C282Y [1]. Ces SNPs ont été analysés par méthode *TaqMan Endpoint Genotyping* (Thermo Fisher Scientific, USA).

Une association entre le SNP rs884409 du gène *CYBRD1* et la ferritine sérique a été retrouvée en utilisant un modèle de régression linéaire, ajusté à l'âge, au sexe, et au mode de recrutement des patients, et ajusté sur la consommation d'alcool ( $p = 0,014$ ) ou non ( $p = 0,0059$ ).

Les fréquences alléliques des différents marqueurs ont été explorées chez les patients présentant un phénotype marqué de la maladie : soit chez les hommes avec une ferritinémie  $> 500 \mu\text{g/l}$  et ne consommant pas d'alcool de façon significative ( $< 20 \text{ g d'alcool par/j}$ ); soit chez des hommes, et des femmes de plus de 55 ans, avec ferritinémie  $> 300 \mu\text{g/l}$ , des signes cliniques, et ne consommant pas d'alcool de façon significative. Un enrichissement significatif de l'allèle mineur de rs11558492 du gène *GNPAT* a été retrouvé lorsque l'on compare la fréquence de cet allèle avec celle trouvée dans une cohorte de 60 individus originaires du Nord-Ouest de l'Europe (CEU) du projet HapMap et dans une cohorte 4300 Américains d'origine européenne dont les exons ont été séquencés (Exome Variant Server) ( $p < 0,0001$  dans les 2 cas).

En conclusion, notre étude met en avant deux SNPs (rs884409 et rs11558492) qui jouent un rôle probable de modificateurs génétiques de l'expression phénotypique chez les sujets hétérozygotes composites YD. Ces résultats confortent également l'hypothèse d'un rôle, encore non élucidé, du gène *GNPAT* dans l'homéostasie du fer.

1 McLaren CE, Emond MJ, Subramaniam VN, *et al.* Exome sequencing in HFE C282Y homozygous men with extreme phenotypes identifies a GNPAT variant associated with severe iron overload. *Hepatology* 2015;:n/a–n/a. doi:10.1002/hep.27851

**#2516 : Déficit en arginase révélé par un trouble de la coagulation**

**Auteurs :**

Gilles Morin (1), Valérie Li Thiao Te (2), Reda Cheriet (3), Guillaume Jedraszak (4), Alexandra Petit (1), Florence Jobic (1), Anne-Gaëlle Le Moing (5), Johannes Häberle (6), Jérôme Ausseil (7), Michèle Mathieu-Dramard (1)

1. Service de Génétique Clinique et Oncogénétique, CHU Amiens, Amiens, France
2. Service d'Onco-Hématologie Pédiatrique, CHU Amiens, Amiens, France
3. Service d'Hépto-Gastroentérologie Pédiatrique, CHU Amiens, Amiens, France
4. Laboratoire de Cytogénétique et Biologie de la Reproduction, CHU Amiens, Amiens, France
5. Service de Neurologie Pédiatrique, CHU Amiens, Amiens, France
6. Division of Metabolism, University Children's Hospital, Zürich, Suisse
7. Laboratoire de Biochimie, CHU Amiens, Amiens, France

**Mots clefs :** déficit en arginase, trouble de la coagulation, cytolysé hépatique, ARG1

**Résumé :**

Le déficit en arginase (MIM#207800) est une maladie héréditaire du métabolisme de transmission autosomique récessive impliquant la dernière enzyme du cycle de l'urée qui catalyse la conversion de l'arginine en ornithine et en urée. La principale anomalie biochimique observée est une élévation du taux d'arginine dans le plasma et les divers fluides corporels. Contrairement aux autres anomalies du cycle de l'urée, le déficit en arginase n'est généralement pas révélé par des épisodes aigus d'hyperammoniémie. C'est plutôt la survenue d'un déficit cognitif, d'une diplégie spastique progressive ou d'une épilepsie au cours de l'enfance qui donne l'alerte. Un retard statural est souvent associé. Chez certains patients, une atteinte hépatique est décrite.

Nous rapportons l'observation d'un garçon de 18 mois, premier enfant de parents supposés non consanguins, mais portant le même patronyme et originaire de la même région, chez lequel un bilan préopératoire pour hypospade a révélé l'existence d'une diminution du TP à 33% et d'un allongement du TCA à 47'' (témoin 28''). Le bilan de contrôle a confirmé ces résultats et révélé un déficit combiné en facteur VII (8%) et IX (11%), alors que les autres facteurs de coagulation étaient normaux, dont le facteur V (71%). Une cytolysé hépatique modérée était présente (ASAT 85UI/l, ALAT 80UI/l). Une supplémentation orale par vitamine K était sans effet sur les anomalies biologiques. Le bilan métabolique révélait des taux élevés d'arginine dans le plasma et les urines (447 and 27  $\mu\text{mol/l}$  respectivement), un taux d'acide orotique urinaire élevé (8,2 mmol/mol de créatinine), mais une ammoniémie normale. Le déficit en arginase était confirmé par l'identification d'une mutation homozygote de l'exon 8 du gène ARG1 (c.871C > T), présente à l'état hétérozygote chez chacun des 2 parents.

La découverte d'un déficit en arginase par le biais d'une anomalie de coagulation (déficit en facteurs VII et IX) est un fait très inhabituel qui pose la question du mécanisme physiopathologique sous-jacent et de l'efficacité potentielle que pourrait avoir le régime hypoprotidique sur cette anomalie biologique.

#2536 : Etude du polymorphisme du gène PTPN22 et du gène PADI4 chez des patients Algériens atteints de polyarthrite rhumatoïde et influence des auto-anticorps

**Auteurs :**

nabil raaf (1), ines allam (2), reda djidjik (3), mohamed ghaffor (4)

1. laboratoire de biologie clinique CHU béni-messous ALGER, Faculté de médecine d'Alger, Alger, Algérie
2. service d'immunologie médicale CHU béni-messous ALGER, faculte de medecine d'Alger, Alger, Algérie
3. service d'immunologie médicale CHU béni-messous ALGER, faculte de medecine d'Alger, alger, Algérie
4. laboratoire de biologie clinique CHU béni-messous ALGER, Faculté de médecine d'Alger, alger, Algérie

**Mots clefs :** polyarthrite rhumatoïde, polymorphisme gène PTPN22, polymorphisme gène PADI4, anti CCP, facteurs rhumatoïdes

**Résumé :**

**INTRODUCTION / OBJECTIF :** La polyarthrite rhumatoïde (PR) est le plus fréquent des rhumatismes inflammatoires chroniques de l'adulte. Il s'agit d'une maladie auto-immune multifactorielle.

Sa physiopathologie est complexe, impliquant à la fois des facteurs génétiques et environnementaux. La composante génétique de la PR pourrait intervenir jusqu'à 60 % dans son étiologie, le locus considéré comme ayant une forte association avec la PR étant le locus HLA-DRB1 du complexe majeur d'histocompatibilité ou système HLA. Néanmoins, les effets du polymorphisme du complexe HLA n'interviennent que pour un tiers de cette composante génétique. Récemment, des gènes candidats situés en dehors de la région HLA ont été mis en évidence, permettant d'identifier d'autres locus de susceptibilité dont Le gène de la Proteine tyrosine phosphatase (PTPN22).

La PR est caractérisé sérologiquement par la présence d'auto-anticorps : le facteur rhumatoïde (FR) et les anti-citrullinated peptides/proteins antibodies (ACPA).

L'objectif de notre étude, est d'évaluer l'implication du polymorphisme du gène du gène PTPN22 W620 (**rs2240340**) dans la survenue de la PR, ainsi que d'évaluer leur corrélation avec les différents *phénotypes clinico-biologiques* de la maladie

**PATIENTS et METHODES :** Cette étude est de type cas/témoin portant sur 300 patients remplissant au moins 4 des 7 critères de l'ACR et 306 témoins indemne de toutes pathologie inflammatoire, rhumatismale.les polymorphismes sont étudiés par PCR en temps réel. La recherche des ACPA a été faite par une technique ELISA, celle des FR par néphélobimétrie laser.

**RESULTATS :** l'Analyse des Fréquences alléliques et génotypiques du polymorphisme PADI4 chez les malades et les témoins n'a **Pas montré d'association du SNP étudié et la susceptibilité à la PR**

De même la Comparaison des fréquences alléliques et génotypiques chez les patients PR en fonction de la positivité des ACPA ou des FR n'a pas **notée d'association**.

**CONCLUSIONS :** Notre étude a démontrée l'absence d'association du polymorphisme du gène PTPN22 avec la PR puisque aucune différence significative n'a été notée dans les fréquences génotypiques et alléliques de ces polymorphismes entre les patients PR et témoins.

Cependant on note une **Association R620W/PR FR+ (P = 0.013 OR=8.53)** déjà décrite en bibliographie en effet L'allèle mineur (T) du gène PTPN22 semble prédisposer a des PR FR+.

**#2591 : La filière de santé Anomalie du Développement Déficience Intellectuelle de causes Rares (AnDDI-Rares) et ses principaux outils de communication**

**Auteurs :**

Laurent Demougeot (1), Laurence Faivre (1), Tania Attié-Bitach (2), Nadia Bahi-Buisson (2), Lilia Ben Slama (2), Dominique Bonneau (3), Jean-Paul Bonnefont (2), Valérie Cormier-Daire (2), Bénédicte Demeer (4), Christel Depienne (5), Martine Doco-Fenzy (6), Patrick Edery (7), Salima El Chehadeh (5), Fabienne Escande (8), Christine Francannet (9), David Geneviève (10), Alice Goldenberg (11), Marie Gonzales (2), Didier Lacombe (12), Anne-Sophie Lapointe (2), Annie Laquerrière (11), Cédric Le Caignec (13), Stanyslas Lyonnet (2), Sylvie Manouvrier (14), Dominique Martin (15), Sandra Mercier (13), Sophie Naudion (12), Sylvie Odent (16), Laurent Pasquier (16), Nicole Philip (17), Massimiliano Rossi (7), Damien Sanlaville (18), Pierre Sarda (10), Sabine Sigaudy (17), Annick Toutain (19), Alain Verloes (2), Céline Vernin (18), Malika Yahmi (2), Christel Thauvin-Robinet (1)

1. Clad Est, CHU Dijon, Dijon, France
2. CLAD Ile de France, CHU Paris, Paris, France
3. CLAD Ouest, CHU Angers, Angers, France
4. CLAD Nord, CHU Amiens, Amiens, France
5. Clad Est, Strasbourg, Strasbourg, France
6. Clad Est, Reims, Reims, France
7. CLAD Centre Est, CHU Lyon, Lyon, France
8. CLAD Nord, Lille, Lille, France
9. CLAD Centre Est, Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, France
10. CLAD Sud Languedoc-Roussillon, CHU Montpellier, Montpellier, France
11. CCAD, CHU Rouen, Rouen, France
12. CLAD Sud Ouest, CHU Bordeaux, Bordeaux, France
13. CLAD Ouest, CHU Nantes, Nantes, France
14. CLAD Nord, CHRU Lille, Lille, France
15. CCAD, CHU Le Mans, Le Mans, France
16. CLAD Ouest, CHU Rennes, Rennes, France
17. CLAD Sud PACA, CHU Marseille, Marseille, France
18. CLAD Centre Est, Lyon, Lyon, France
19. CLAD Ouest, CHU Tours, Tours, France

**Mots clefs :** Filière de santé, Anomalies du développement, Déficience intellectuelle, communication

**Résumé :**

Les filières de santé maladies rares sont une mesure phare du 2<sup>ème</sup> plan Maladies Rares, mises en place dans le but de coordonner sur le plan national la prise en charge, la formation et la recherche dans le cadre des maladies rares. La filière de santé AnDDI-Rares est l'une des plus grosses filières de santé parmi les 23 filières labellisées par le ministère de la santé, et concerne les anomalies du développement avec ou sans déficience intellectuelle. Depuis sa mise en place en Septembre 2014, elle a souhaité proposer aux cibles de la filière (patients, professionnels de la santé, étudiants, partenaires publics et privés) des outils de communication à travers lesquels elle renseigne un maximum d'informations centralisées pour répondre à leurs différents besoins.

La première initiative a été la mise en ligne d'un site internet depuis le mois d'octobre 2015. Ce site propose un espace libre, tout public, et un espace sécurisé pour les professionnels, membres de la filière. Véritable « vitrine » de la filière, ce site Internet est le reflet de son champ d'activité, pour une organisation nationale structurée du diagnostic, de la prise en charge, de l'enseignement et de la recherche, au service des patients atteints de maladies rares avec anomalies du développement. Il permet également de soutenir l'organisation interne de la filière par la mise en ligne des programmes des différentes réunions et manifestations de la filière, de même que le partage sécurisé de documents entre professionnels autorisés.

En parallèle, La filière de santé AnDDI-Rares a développé « le blog du Pr Folk – vivre avec une maladie génétique rare », afin de diffuser des informations de qualité destinées principalement aux patients et aux familles qui viennent en consultation dans les différents sites nationaux. La ligne éditoriale est principalement centrée sur les anomalies du développement avec ou sans déficience intellectuelle de causes rares. Le blog s'articule autour de 7 rubriques : A lire, à voir : suggestions de lecture, de films ; (In)formez-vous : articles médicaux de vulgarisation ; Trucs et astuces : conseils pratiques pour le quotidien des familles ; Evènements / Loisirs :

informations sur les événements et loisirs auxquels les familles peuvent participer ; Le coin des associations : le contenu de cette rubrique est proposé par les associations ; Le coin des régions : accès immédiat aux informations locales ; Bon à savoir : toute information ne pouvant pas être diffusée dans les précédentes rubriques. Un comité éditorial a été constitué afin de définir tous les 3 mois les thématiques abordées. Les auteurs des articles sont des généticiens cliniciens, des biologistes cytogénéticiens, des généticiens moléculaires, des scientifiques, des représentants d'associations,... Ces professionnels de santé garantissent la qualité de l'information. Les articles rédigés ainsi que l'information qui circulera après la publication d'un article sont validés avant publication.

**#2608 : Haplo insuffisance du gène *dyrk1a*, une nouvelle cause fréquente de microcéphalie et retard mental?**

**Auteurs :**

Muriel Holder-Espinasse (1), Charulata Deshpande (1), Frances Flinter (1), Leema Robert (1), Mina Ryten (1), Derek Lim (2), Jill Clayton-Smith (3), Sue Price (4), Usha Kini (5), Louise Bicknell (6), Paula Carroll (6), Meredith Wilson (7), Nicola Ragge (8), Alisdair McNeill (9), Jacoba Louw (10), Marc Gewillig (10), Caroline Olgivie (11), Koenraad Devriendt (12)

1. Clinical Genetics department, Guy's Hospital, London, Royaume Uni
2. Clinical Genetics department, West Midlands Regional, Birmingham, Royaume Uni
3. Clinical Genetics department, Centre for Genomic Medicine, Manchester, Royaume Uni
4. Clinical Genetics department, Northampton Hospital, Northampton, Royaume Uni
5. Clinical Genetics department, Oxford Hospital, Oxford, Royaume Uni
6. Institute of Genetics, Molecular Medicine, Edinburgh, Royaume Uni
7. Clinical Genetics department, The children's hospital at Westmead, Sydney, Australie
8. Clinical Genetics department, Birmingham Women's Hospital, Birmingham, Royaume Uni
9. Clinical Genetics department, Birmingham Women's Hospital, Birmingham, France
10. Department of Paediatric cardiology, Leuven, Leuven, Belgique
11. Cytogenetics department, Guy's Hospital, London, Royaume Uni
12. Clinical Genetics department, Leuven, Leuven, Belgique

**Mots clefs :** DYRK1A, microcéphalie, retard mental

**Résumé :**

DYRK1A est probablement le gène qui a le plus été étudié sur le chromosome 21 au cours des 10 dernières années compte tenu des corrélations notables entre son niveau d'expression dans le cerveau et les pathologies neurologiques associées à la trisomie 21. DYRK1A joue en effet un rôle majeur au cours du développement, et est impliquée notamment dans la régulation de la taille du cerveau et la formation de certaines structures cérébrales. DYRK1A est exprimée dans le cerveau adulte humain majoritairement au niveau du cervelet. Son expression est étroitement liée à la croissance cérébrale, la prolifération neuronale et la neurogenèse de façon dose-dépendante. Ainsi, une haplo insuffisance de DYRK1A induit une diminution de la taille cérébrale chez la souris tandis qu'un modèle "gain de fonction" (à 3 allèles) présente une augmentation du volume cérébral. DYRK1A a aussi été impliquée dans la phosphorylation de tau dans un modèle murin de trisomie 21 utilisé pour l'étude du vieillissement et pourrait devenir une cible thérapeutique potentielle puisqu'il a été démontré que sa surexpression induit des altérations neurobiologiques similaires à celles observées dans la trisomie 21.

Des délétions ou des mutations impliquant le gène DYRK1A ont été rapportées en association à une déficience intellectuelle, une microcéphalie et une dysmorphie faciale. Nous avons identifié une délétion de 2 Mb survenue *de novo* en 21q22.12 comprenant le gène DYRK1A chez un patient, 2 délétions *de novo* en 21q22.12 interrompant et délétant partiellement le gène DYRK1A et 8 mutations *de novo* du gène DYRK1A chez des patients non apparentes, par CGH-array et analyse d'exomes dans le cadre du projet de recherche Deciphering Developmental Disorders (DDD) au Royaume-Uni et par l'intermédiaire d'autres collaborations. Tous les patients étaient microcéphales et présentaient un retard intellectuel ainsi que des éléments dysmorphiques semblables. Dix des 11 patients présentaient également un retard de croissance, une épilepsie et des troubles du comportement. D'autres anomalies étaient identifiées chez certains d'entre eux telles que fente palatine, difficultés alimentaires, reflux-gastro-oesophagien, colobome, cataracte, malformations cardiaques et cérébrales.

Nous présentons les signes cliniques et para cliniques de nos patients et les comparons avec les patients rapportés précédemment dans la littérature, afin de mieux comprendre le spectre phénotypique associé à une haplo insuffisance du gène DYRK1A. Nous analysons aussi les données d'expression du gène DYRK1A dans le cerveau fœtal et adulte afin de mieux comprendre les mécanismes moléculaires sous-jacents à ce nouveau syndrome émergent.

DYRK1A devrait faire partie de la liste des gènes responsables de déficience intellectuelle syndromique en association à une microcéphalie sévère, un retard de croissance et une épilepsie. Il a été identifié récemment comme faisant partie du "top 10" des gènes le plus fréquemment impliqués dans ce type de spectre clinique par DDD, aux côtés de ARID1B, SCN2A, ANKRD11, SATB2 et SYNGAP1.

**#2627 : Description d'une forme sévère de syndrome de Frank-Ter Haar: à propos d'un cas**

**Auteurs :**

Laetitia OERTEL (1), Cécile POULAIN (2), Corinne STOETZEL (2), Nadège CALMELS (3), Nadine KEMPS (3), Dana Luiza TIMBOLSCHI (1), Charlie DE MELO (4), Lionel DONATO (5), Dominique ASTRUC (5), Arnaud SAUER (6), Claude SPEEG-SCHATZ (6), Hélène DOLLFUS (1), Hélène DOLLFUS (2), Elise SCHAEFER (1), Salima EL CHEHADEH (1)

1. Service de génétique médicale, Institut de génétique médicale d'Alsace (IGMA), Centre de Référence Maladies Rares «Anomalies du développement et syndromes malformatifs» de l'Est, Hôpitaux universitaires de Strasbourg, Hôpital de Hautepierre, Strasbourg, France
2. U1112 Laboratoire de génétique médicale, Faculté de médecine, Université de Strasbourg, Strasbourg, France
3. Laboratoire de diagnostic génétique, Hôpitaux universitaires de Strasbourg, Hôpital civil, Strasbourg, France
4. Service de réanimation pédiatrique, Pôle médico-chirurgical de pédiatrie, Hôpitaux universitaires de Strasbourg, Hôpital de Hautepierre, Strasbourg, France
5. Médecine et réanimation du nouveau-né, Pôle médico-chirurgical de pédiatrie, Hôpitaux universitaires de Strasbourg, Hôpital de Hautepierre, Strasbourg, France
6. Service d'ophtalmologie, Hôpitaux universitaires de Strasbourg, Hôpital civil, Strasbourg, France

**Mots clefs :** syndrome de Frank-Ter Harr, glaucome congénital, anomalies squelettiques, atteinte respiratoire

**Résumé :**

Le syndrome de Frank-Ter Haar (SFTH) est un syndrome rare de transmission autosomique récessive lié à des mutations au sein du gène *SH3PXD2B* impliqué dans la formation et la fonction des podosomes. Ce syndrome associe une dysmorphie faciale caractéristique, une mégalocornée avec ou sans glaucome, des anomalies orthopédiques et cardiaques ainsi qu'un retard de développement. A ce jour, 31 patients ont été rapportés dans la littérature, dont 13 avec mutations identifiées. Parmi ces derniers, 4 présentaient un glaucome congénital et 3 sont décédés dans la petite enfance de décompensation cardiaque ou d'infection respiratoire. Nous rapportons le cas de la première enfant d'un couple consanguin d'origine arménienne présentant une hypotrophie harmonieuse de début anténatal, une hypotonie axiale, un glaucome congénital, un appendice caudal et une dysmorphie faciale comportant une buphtalmie avec mégalocornée, une fontanelle antérieure large avec un front haut, un hypertélorisme, des oreilles dysplasiques et basses, des lèvres fines, un rétrognathisme et un excès de peau nucale. Cette dysmorphie était évolutive, les traits devenant plus épais avec le temps. L'examen des extrémités retrouvait une camptodactylie bilatérale et une malposition de certains orteils. Le bilan malformatif révélait une large communication inter-ventriculaire, un rein pelvien, une scoliose dorsolombaire, une dysplasie de hanche unilatérale, un corps calleux grêle et une méga-grande citerne. L'évolution clinique a été marquée par 3 échecs de trabéculotomie, responsables d'une majoration de la buphtalmie, et par une insuffisance respiratoire avec atteinte alvéolaire et dépendance ventilatoire responsable du décès à l'âge de 5 mois. Il n'a pas été réalisé d'autopsie. Le diagnostic de syndrome de SFTH a été suspecté devant le tableau clinique et confirmé par l'identification d'une mutation délétère à l'état homozygote au sein du gène *SH3PXD2B* (c.969delG), déjà décrite dans la littérature, retrouvée à l'état hétérozygote chez les deux parents. La détermination d'une corrélation génotype-phénotype n'a pas été possible du fait du trop faible nombre de patients décrits d'une part et du fait que 2 des 3 autres patients de la littérature porteurs de cette même mutation à l'état homozygote présentaient une évolution clinique favorable d'autre part. Il s'agit de la première description d'une atteinte respiratoire sévère non infectieuse et létale dans ce syndrome, ce qui confirme son importante hétérogénéité clinique, deux tiers des patients mutés présentant une évolution favorable dans les premières années de vie. Cette observation, en association avec les données de la littérature, suggère qu'une forme sévère de glaucome congénital doit faire évoquer un SFTH, lorsqu'elle s'associe à des anomalies squelettiques et cardio-respiratoires. Il est cependant nécessaire de colliger plus de cas afin de mieux caractériser leur phénotype et rechercher l'existence d'une corrélation génotype-phénotype.

#2638 : Un nouveau cas d'amélogenèse imparfaite avec brachyolmie, et revue de la littérature.

**Auteurs :**

Edouard Cottereau (1), Charlotte Gallazini (2), Agnès Bloch-Zupan (3), Annick Toutain (1)

1. Service de Génétique, Centre Hospitalier Universitaire, Tours, France
2. Service de Stomatologie, Centre Hospitalier Universitaire, Tours, France
3. Centre de Référence des Manifestations Odontologiques des Maladies Rares; Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire (IGBMC), CHU de Strasbourg; INSERM U 964, CNRS- UMR7104, Strasbourg, Illkirch, France

**Mots clefs :** amélogenèse imparfaite, brachyolmie, gène *LTBP3*

**Résumé :**

Les amélogenèses imparfaites (AI) sont des troubles du développement affectant la structure et l'apparence clinique de l'émail. Il s'agit de pathologies héréditaires, cliniquement et génétiquement hétérogènes avec plusieurs modes de transmission possibles (lié à l'X, autosomique dominant ou autosomique récessif). Elles peuvent être isolées ou associées à d'autres signes dans un cadre syndromique.

La brachyolmie est une dysplasie squelettique définie par une petite taille non proportionnée avec un tronc court secondaire à une platyspondylie généralisée sans atteinte majeure des épiphyses ou des métaphyses des os longs. Plusieurs types de brachyolmie ont été décrits en fonction du mode transmission et des signes cliniques et radiologiques associés. La brachyolmie de type 1 autosomique récessive est secondaire à des mutations du gène *PAPSS2*. La brachyolmie autosomique dominante est liée à des mutations du gène *TRPV4*.

L'association brachyolmie - AI est une affection autosomique récessive décrite en 1996 par Verloes *et al* chez un frère et une sœur nés d'un couple apparenté. Seulement 13 cas ont été rapportés. En 2015, Huckert *et al*, ont identifié des mutations du gène *LTBP3* chez des patients atteints de ce syndrome.

Nous présentons un nouveau patient atteint de cette pathologie et comparons son phénotype avec celui des patients de la littérature. Il présente une amélogenèse de type hypoplasique avec des agénésies dentaires multiples et un taurodontisme marqué, et sur les radiographies de squelette une platyspondylie modérée des vertèbres thoraciques. Il a par ailleurs des particularités morphologiques (fentes palpébrales étroites, obliques en bas et en dehors, philtrum court). Enfin, il a présenté deux fractures faciales des membres supérieurs et les radiographies montrent une transparence osseuse excessive et des corticales des os longs minces. De discrets signes dysmorphiques et une ostéopénie, rapportés chez certains patients, n'ont pas été mis en exergue dans la littérature mais pourraient constituer des signes significatifs de la pathologie.

**#2650 : Nouveau modèle murin récapitulant le syndrome Costello**

**Auteurs :**

Ghina Bouabout (1), marie-christine Birling (1), marie-France Champy (1), Hugues Jacobs (1), Hamid Meziane (2), Parlog Alexandru (1), Tania Sorg (1), Yann Herault (1), Didier Lacombe (3)

1. , institut clinique de la souris, strasbourg, France

2. , institut clinique de la souris, Strasbourg, France

3. service de génétique médicale, CHU de Bordeaux-GH Pellegrin, Bordeaux, France

**Mots clefs :** Costello syndrome, rare genetic disorder, hypertension, cardiovascular disease

**Résumé :**

Costello Syndrome (CS) is a rare multisystem genetic disorder characterized by prenatal growth retardation, coarse facial features, redundant skin with deep palmar, plantar creases and papillomata of later onset. CS patients also show laxity of small joints, tight Achilles tendons, cardiac malformations, and developmental delay. The primary cause of CS was associated to the germ line activation of H-Ras oncogene, with a common missense mutation G12S in 80% of the patients. We generated a new genetically engineered CS model (CS-G12S) and we performed a general behavioural, morphological, visual, metabolic, cardiac and histological phenotyping. The new genetically engineered CS mouse model showed phenotypes similar to human with a reduction in locomotor activity, accompanied by decreased muscle strength, altered motor coordination performance together with a hypertensive phenotype combined with tachycardia and macrocephalia. To better understand the cardiac defect and to confirm the primary observations, we phenotyped homozygous and heterozygous male and female mice at different time points to search some phenocopied defects observed in CS patients. In 78 week-old homozygous CS male, we identified cardiac functional defects characterized by right and left systolic dysfunction attested by decrease in right ventricular pressure, contractility, pulmonary and aortic blood velocity accompanied by an increase in blood volume and pressure in the left ventricle. We also found a primary trouble of the left-ventricular relaxation attested by an increase of the isovolumetric relaxation time (IVRT). These observations were confirmed in young homozygous animals (23 weeks) and, at a lower extent, in heterozygous female mice (28 weeks) in which we also found an increase in left-ventricular wall thickness and an increase of cardiac output and stroke volume. These results could fit with a hypertensive profile in these animals. Fractional shortening was not affected but the measurement of the mean velocity of circumferential fibre shortening (Vcf) identified an alteration of the longitudinal ventricular fibres contractility compensated by an increase contractility of circular fibres (0.40 %/ms in homozygote mice and 0.35 %/ms in heterozygote mice compared to 1.47 %/ms in controls). Baseline invasive blood pressure measurement by telemetry demonstrated a blood pressure increase together with a bradycardia in homozygote mice. In conclusion, the CS-G12S mice reproduce some of the cardiovascular symptoms observed in CS patients (cardiac functional abnormalities, hypertension). The use of this CS mouse model opens new area of investigations to better understand the pathophysiology of the disease but also to evaluate dedicated drugs.

**#2652 : Association kératodermie palmo-plantaire et anomalies des cheveux : un signal d'alarme pour une cardiomyopathie sévère. Revue systématique sur les maladies desmosomales d'origine génétique.**

**Auteurs :**

Laura Polivka (1), Christine Bodemer (1), Smail Hadj-Rabia (1)

1. Centre de référence des maladies génétiques à Expression Cutanée, service de Dermatologie, Hôpital Necker-Enfants Malades, Institut Imagine, Université Descartes Sorbonne Paris Cité, Paris, France

**Mots clefs :** Desmosomes, kératodermie palmo-plantaire, anomalies des cheveux, cardiomyopathie

**Résumé :**

**Introduction**

Les maladies desmosomales (MD) sont caractérisées par l'association de manifestations cardiaques et/ou cutanées. L'atteinte cutanée, précoce, précède la cardiomyopathie sévère parfois fatale. A partir d'une analyse systématique des publications, nous proposons un algorithme, qui au travers des signes dermatologiques permet d'identifier les patients à haut risque d'atteinte cardiaque. Cet algorithme oriente également l'analyse moléculaire.

**Méthodes**

Analyse des articles publiés (1997-2015) répondant aux critères d'inclusion suivants: 1) Au moins une mutation identifiée dans l'un des gènes de MD : JUP, PKP1, PKP2, DSP, DSG1 à DSG4, DSC1 à 3 et CDSN; 2) Description du phénotype dermatologique. Les articles centrés sur les seules manifestations extra-cutanées et cardiaques ont été exclus. Les variations de séquence génique ont été contrôlées et actualisées grâce au logiciel ENSEMBL.

**Résultats**

Ont été retenus 78 articles regroupant 458 patients. La kératodermie palmo-plantaire (KPP), les anomalies des cheveux (AdC) (cheveux laineux et/ou épars), et la fragilité cutanée, allant des bulles spontanées aux érosions post-grattage, étaient les trois manifestations dermatologiques, parfois discrètes, les plus fréquentes. Alors que les formes isolées de KPP ou d'AdC sont associées à des MD limitées à la peau, leur coexistence (KPP-AdC), rapportée chez 161 patients, était associée à une atteinte cardiaque dans 80,1% des cas (129 /161). Chez ces 129 patients, les AdC étaient présentes dès les premiers jours de vie, la KPP apparaissait autour de la première année et la cardiomyopathie était symptomatique à l'âge médian de 12 ans (1-46 ans). Les signes dermatologiques avaient conduit à une exploration cardiaque systématique seulement chez 2,3% (n=3) d'entre eux.

L'association KPP-AdC relève de trois phénotypes majeurs :

- 1- KPP-AdC-sans fragilité cutanée (77% des patients) toujours associé à une atteinte cardiaque.
- 2- KPP-AdC-fragilité cutanée et fonction cardiaque normale (19,9% des patients) souvent en rapport avec des mutations du gène PKP1 dont le produit (Plakophilin1) n'est pas une protéine du desmosome cardiaque.
- 3- KPP-AdC-fragilité cutanée avec atteinte cardiaque (3,1% des patients) toujours en rapport avec des mutations de DSP.

Enfin l'étude moléculaire est facilitée par la présence de trois points chauds de mutations, dans les gènes DSP et JUP qui rendaient compte de 90,8% des patients avec MD et atteinte cardiaque.

**Conclusion**

L'association KPP-AdC, avec ou sans fragilité cutanée, justifie d'une exploration cardiaque précoce (échographie cardiaque et ECG) et d'une surveillance prolongée chez les patients ne présentant pas de mutation PKP1.

**#2656 : Exome sequencing reveals a novel nonsense mutation of WTN10B gene in a moroccan family with split-hand foot malformation**

**Auteurs :**

ilham ratbi (1), Yun Li (2), Nawfal Fejjal (3), Thiele Holger (4), Siham Chafai Elalaoui (1), Janine Altmuller (4), Soukaina Guaoua (1), Peter Nurnberg (4), Bernd Wollnik (2), Abdelaziz Sefiani (5)

1. Centre de Génomique Humaine, Faculté de Médecine et de Pharmacie , Université Mohammed V , Rabat, Maroc
2. Center for Molecular Medicine , University of Cologne, Cologne, Allemagne
3. Service de chirurgie plastique pédiatrique, hôpital des enfants, CHU Ibn Sina, Faculté de médecine et de Pharmacie, Université Mohammed V , Rabat, Maroc
4. Cologne Center for Genomics, University of Cologne, Cologne, Allemagne
5. Département de génétique médicale, Institut National d'Hygiène , Rabat, Maroc

**Mots clefs :** Split-hand foot malformation, moroccan family, Exome sequencing, WTN10B gene, novel mutation

**Résumé :**

Split-hand foot malformation (SHFM) is a clinically heterogeneous congenital limb defect affecting predominantly the central rays of hands and/or feet. The clinical expression varies in severity between patients as well between the limbs in the same individual. SHFM might be non-syndromic with limb-confined manifestations or syndromic with extra-limb manifestations. Isolated SHFM is a rare condition with an incidence of about 1 per 18,000 live born infants and accounts for 8-17 % of all limb malformations. To date, seven chromosomal loci associated with isolated SHFM have been described, i.e., SHFM1 to 6. Most of the known SHFM loci are associated with chromosomal rearrangements that involve small deletions or duplications of the human genome. In addition, three genes, i.e., *TP63* (*tumor protein p63*, MIM 603273), *WNT10B* (*awingless-type MMTV integration site family, member 10B*, MIM 601906), and *DLX5* (MIM 600028) are known to carry point mutations in patients affected by SHFM. The autosomal dominant mode of inheritance is typical for SHFM1 (*DLX5* gene on 7q21), SHFM3 on 10q24, SHFM4 (*TP63* gene on 3q27) and SHFM5 on 2q31. Two autosomal recessive forms have been reported, i.e., SHFM2 on 3q27 and SHFM6 (*WNT10B* gene on 12q13.12). In addition, SHFM2 has been assigned to Xq26 by linkage analyses in large Pakistani kindred.

We have investigated a large consanguineous Moroccan family with three affected members showing feet malformations with or without split hand malformation phenotypes. Using an exome sequencing approach, we identified a novel homozygous nonsense variant p.Arg115\* of *WNT10B* gene retaining thereby the diagnosis of SHFM6.

**#2657 : Atrichie, kératodermiepalmo-plantaire, fragilité cutanée : penser au risque cardiaque**

**Auteurs :**

Laura Polivka (1), Stéphanie Leclerc-Mercier (1), Alice Maltret (2), Véronique Fressart (3), Jean-Marc Bressieux (4), Pierre Vabres (5), Christine Bodemer (1), Smail Hadj-Rabia (1)

1. Centre de référence des maladies génétiques à Expression Cutanée, service de Dermatologie, Hôpital Necker-Enfants Malades, Institut Imagine, Université Descartes Sorbonne Paris Cité, Paris, France
2. Cardiologie, Hôpital Necker-Enfants Malades, Institut Imagine, Université Descartes Sorbonne Paris Cité, Paris, France
3. (4) Centre de Génétique et cytogénétique, Unité fonctionnelle de cardiogénétique et myogénétique moléculaire et cellulaire, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, Paris, France
4. Dermatologie, CH Troyes, Troyes, France
5. Dermatologie, CHU Dijon, Dijon, France

**Mots clefs :** Atrichie, Kératodermie palmo-plantaire, fragilité cutanée cardiomyopathie

**Résumé :**

**Introduction**

L'atrachie correspond à l'absence totale de pilosité. Congénitale, elle peut accompagner un syndrome IFAP (Ichtyose Folliculaire, Atrichie, Photophobie), un syndrome AEC (Ankyloblépharon, Ectrodactylie, Fente Palatine)... Elle peut surtout révéler la cardiopathie infra-clinique d'une maladie constitutionnelle du desmosome (MD) lorsqu'elle est associée à une kératodermie palmo-plantaire (KPP) comme l'illustre notre observation.

**Observation**

E, 3 ans, seul enfant d'un couple non apparenté était adressé pour atrichie congénitale. Vers l'âge de 1an, était constatée une KPP. A l'examen clinique, E présentait une atrichie, une KPP striée sur les plantes et diffuse sur les paumes. Sur le cuir chevelu et le dos, il avait de nombreuses érosions, linéaires ou à l'emporte-pièce, témoignant d'une fragilité cutanée aux frottements et au grattage. Ses ongles et ses dents étaient normaux. Une échographie cardiaque, réalisée du fait de l'association KPP et atrichie, et donc de la suspicion d'une MD, montrait une cardiomyopathie dilatée bi-ventriculaire. La coupe semi-fine et l'étude ultrastructurale de la biopsie cutanée montraient des tonofilaments compactés autour du noyau des kératinocytes et des espaces intercellulaires clairs avec des desmosomes réduits en nombre et en taille. Deux mois après le diagnostic de cardiomyopathie et malgré un traitement adapté, un arrêt cardio-respiratoire sur troubles du rythme ventriculaire est survenu. L'évolution a été favorable grâce au traitement médical. A visée préventive, un défibrillateur auto-implantable a été posé. Le séquençage des gènes des protéines desmosomales a confirmé le diagnostic de syndrome de Carvajal (SC) avec fragilité cutanée en montrant qu'E était hétérozygote composite pour deux nouvelles mutations du gène de la desmoplakine (DSP).

**Discussion**

Les desmosomes, jonctions adhérentes intercellulaires, assurent l'intégrité et la stabilité de l'épiderme et du myocarde. Des mutations des gènes codant les protéines desmosomales sont impliquées dans différentes maladies génétiques dont le spectre clinique va de la KPP isolée à l'épidermolyse bulleuse acantholytique néonatale létale. Dans les formes cardio-cutanées, les mutations concernent le gène de la plakoglobine (syndrome de Naxos) ou de la desmoplakine (SC) comme ici. Le gène de la desmocolline 2 a été incriminé pour une famille.

Ces deux syndromes, de transmission autosomique récessive voire dominante, ont en commun une atteinte des cheveux (laineux, clairsemés ou absents), une KPP et une atteinte cardiaque. Le SC avec fragilité cutanée a été rapporté chez 5 autres patients. Dans cette forme, l'atteinte cardiaque survient plus précocement, dès la première enfance.

**Conclusion**

L'association KPP, anomalies des cheveux +/- fragilité cutanée impose de rechercher une cardiomyopathie infra-clinique dont la première manifestation peut être une mort subite.

**#2664 : PMM2-CDG : présentation clinique et biologique de 96 patients diagnostiqués en France**

**Auteurs :**

Pascale DE LONLAY (1), Céline Roda (1), Marie-Lorraine Monin (2), Sandrine VUILLAUMIER-BARROT (3), Thierry DUPRE (3), christelle thauvin (4), Alice Masurel (4), Emmanuel Roze (2), Cyril Mignot (5), Valérie Cormier-Daire (1), Hélène Ogier (6), Valerie Drouin-Garraud (7), michèle Mayer (6), Philippe Khau Van Kien (8), Delphine Héron (9), Nathalie SETA (3)

1. centre national de référence des maladies métaboliques, Hôpital Necker-Enfants Malades, PARIS, France
2. Département de Génétique, Unité Fonctionnelle de Neurogénétique moléculaire et cellulaire et Centre de Référence des Déficiences Intellectuelles de Causes Rares, AP-HP, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, PARIS, France
3. Biochimie, AP-HP, Hôpital Bichat, PARIS, France
4. , , DIJON, France
5. Département de Génétique, Unité Fonctionnelle de Neurogénétique moléculaire et cellulaire et Centre de Référence des Déficiences Intellectuelles de Causes Rares, AP-HP, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, , France
6. , , PARIS, France
7. Génétique, CHU de Rouen, ROUEN, France
8. , , NIMES, France
9. Génétique, AP-HP, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, PARIS, France

**Mots clefs :** CDG syndrome, PMM2-CDG, CDG la

**Résumé :**

Le *PMM2*-CDG (*PMM2*-Congenital Disorder of Glycosylation) est une maladie héréditaire faisant partie des erreurs innées du métabolisme affectant la N-glycosylation des glycoprotéines. Il est dû au déficit d'activité de l'enzyme transformant le mannose-6 P en mannose-1 P, la phosphomannomutase. Sur les deux gènes connus, seul le gène *PMM2* est actuellement à l'origine de CDG et c'est la forme la plus fréquente des CDG I en France. L'objectif de notre étude a été de décrire la clinique et la biologie, ainsi que l'évolution du diagnostic à l'âge adulte, d'une grande cohorte de patients *PMM2*-CDG suivis en France.

La collecte des données s'est faite rétrospectivement à l'aide d'un questionnaire à questions fermées, renseigné à partir des dossiers médicaux de 96 patients *PMM2*-CDG (41 hommes et 55 femmes) nés entre 1963 et 2011.

L'âge moyen au moment de l'étude était de 12,3 ans (médiane : 9,9 ans ; [1 mois-50 ans]). Des signes anténataux étaient rapportés dans 1/3 des cas renseignés (cardiopathie conotruncale (n=4), mamelons ombiliqués (n=3), anasarque foetoplacentaire(n=1)). L'évocation du diagnostic (posé en moyenne à 6,8 ans) s'est basé sur essentiellement les symptômes neurologiques (71% ; hypotonie, retard mental, ataxie cérébelleuse) ; mais aussi péricardite, strabisme, anomalies de la coagulation, ou dysmorphie dans < 5%. 15% sont décédés à un âge moyen de 3,8 ans (dénutrition, péricardite, infection).

Des signes neurologiques (retard mental, ataxie cérébelleuse) ont été notés chez tous sauf 1 patient. Certains avaient acquis la maîtrise du langage (n=10) ou de la lecture (n=14). 18% and 52% étaient autonomes dans la marche à 2 et 10 ans respectivement.

On a noté une arefléxie chez la moitié des patients, et une épilepsie chez 1/3 apparaissant à l'âge moyen de 2,7 ans. Enfin chez 15 patients il a été noté un accident cérébral.

La présentation clinique de 38 des patients associait aux signes neurologiques des atteintes multiviscérales postnatales (cardiomyopathie (n=2), péricardite (n=14), malformation cardiaque (n=8), diarrhée chronique ou entéropathie exsudative (n=8), ascite (n=3), anasarque (n=1), atteinte hépatique (n=1), hypertension portale (n=1), syndrome néphrotique (n=2), tubulopathie (n=2), soutien alimentaire (n=22). De plus, des atteintes ophtalmiques quasi constantes (98%) et une surdité neurosensorielle chez 4 cas ont été rapportées. Enfin, la dysplasie ovarienne était très fréquente.

Les anomalies biologiques (sans normalisation au cours du suivi) portaient essentiellement sur une cytolysé hépatique chez ¼ des patients, une hypothyroïdie (26%), des anomalies fréquentes de différents facteurs de la coagulation.

Du fait du nombre élevé de mutations retrouvées sur *PMM2* et de l'hétérozygotie composite fréquente, il n'a pas été mis en évidence de relation génotype-phénotype clinique ou biologique.

En conclusion, la description du *PMM2*-CDG devrait permettre de mieux cibler le dépistage du *PMM2*-CDG et d'organiser la prise en charge à l'âge adulte.

## GÉNÉTIQUE CLINIQUE, DÉVELOPPEMENT, FOETOPATHOLOGIE

**#2684 : Elargissement du spectre clinique et études fonctionnelles concernant la Poïkilodermie fibrosante héréditaire avec myopathie rétractile et fibrose pulmonaire liée à des mutations dans le gène FAM111B**

### Auteurs :

Sandra Mercier (1), Cindy Bokobza (2), Thomas Besnard (3), Emmanuelle Salort-Campana (4), Anne Bigot (5), Küry Sébastien (3), Xénia Latypova (3), Uchenna Agbim (6), Nathalie Bodak (7), Florence Caillon (8), Brigitte Chabrol (9), Valérie Cormier-Daire (10), Bruno Eymard (11), Laurence Faivre (12), Dominique Figarella-Branger (13), Virginie François (14), Mythily Ganapathi (15), Romain Gherardi (16), Alice Goldenberg (17), Alan D. Irvine (18), Dominique Israël-Biet (19), Caroline Kannengiesser (20), Stuart MacGowan (21), Armelle Magot (22), Stéphanie Mallet (9), Maeve A McAleer (18), Irwin McLean (21), Cécile Méni (7), Arnold Munnich (10), Peter L Nagy (23), Jeffrey Odel (24), Grainne M O'Regan (18), Yann Péréon (22), Juliette Piard (25), Eve Puzenat (26), Jacinda B Sampson (27), Frances Smith (28), Nadem Soufir (20), Kurenai Tanji (29), Christel Thauvin (12), Christina Ulane (30), Rosemarie M Watson (18), Nonhlanhla P. Khumalo (31), Bongani Mayosi (32), Sébastien Barbarot (33), Vincent Mouly (5), Erica Davis (2), Stéphane Bézieau (3)

1. CHU de Nantes, Service de Génétique Médicale, Unité de Génétique Clinique, INSERM UMR1089, Atlantic Gene Therapy Institute, University of Nantes , CHU de Nantes, Nantes, France
2. Duke University Medical Center, Department of Pediatrics, , Durham, Etats-Unis
3. CHU Nantes, Service de Génétique Médicale, Unité de Génétique Moléculaire, , Nantes, France
4. CHU La Timone, Centre de référence des maladies neuromusculaires et de la SLA, , Marseille, France
5. Sorbonne Universités, UPMC Univ Paris 06, INSERM UMRS974, CNRS FRE3617, Center for Research in Myology, , Paris, France
6. Department of Medicine, Columbia University Medical Center, , New York, Etats-Unis
7. Hôpital Necker Enfants Malades, AP-HP, Service de dermatologie, , Paris, France
8. CHU Nantes, Service de radiologie, , Nantes, France
9. Service de neuropédiatrie, Hôpital Timone, Aix-Marseille Université, , Marseille, France
10. Hôpital Necker-Enfants malades, AP-HP, U781, Fondation Imagine, Paris Descartes-Sorbonne Paris Cité, Service de Génétique, , Paris, France
11. Centre de référence de Pathologie Neuromusculaire Paris-Est, Institut de Myologie, GHU La Pitié-Salpêtrière, AP-HP, , Paris, France
12. Centre de Référence Anomalies de Développement et Syndromes Malformatifs de l'interrégion Grand-Est et Centre de Génétique, Hôpital d'Enfants, CHU, , Dijon, France
13. Laboratoire de Neuropathologie, Faculté de Médecine, CHU Timone, , Marseille, France
14. INSERM UMR 1089 Atlantic Gene Therapies, Institut de Recherche en Santé (IRS) de l'Université de Nantes, , Nantes, France
15. Department of Neurology, , New York, France
16. AP-HP, Service d'Histologie, INSERM U841 , CHU Mondor, Créteil, , Paris, France
17. CHU de Rouen, Hôpital Charles Nicolles, Service de Génétique, , Rouen, France
18. Department of Paediatric Dermatology, Our Lady's Children's Hospital Crumlin, , Dublin, Irlande
19. AP-HP Hôpital Européen Georges Pompidou, Service de pneumologie, , Paris, France
20. AP-HP, Hôpital Bichat, Service de Génétique, INSERM U976, , Paris, France
21. Centre for Dermatology and Genetic Medicine, Colleges of Life Sciences and Medicine, Dentistry & Nursing, University of Dundee, , Dundee, Royaume Uni
22. CHU de Nantes, Laboratoire d'Explorations Fonctionnelles, Centre de Référence des Maladies Neuromusculaires Rares de l'Enfant et de l'Adulte Nantes-Angers, , Nantes, France
23. Department of Pathology and Cell Biology, Personalized Genomic Medicine, Columbia University Medical Center, , New-York, Etats-Unis
24. Department of Ophthalmology, Columbia University Medical Center, , New York, France
25. CHU de Besançon, Service de Génétique médicale, , Besançon, France
26. CHU de Besançon, Service de Dermatologie, , Besançon, France
27. Department of Neurology, , New York, Etats-Unis
28. Dermatology and Genetic Medicine, University of Dundee, , Dundee, Royaume Uni
29. Division of Neuropathology, Columbia University Medical Center, , New York, Etats-Unis
30. Department of Neurology, Columbia University Medical Center, , New York, France
31. Division of Dermatology, Department of Medicine, Groote Schuur Hospital and University of Cape Town, , Cape Town, Afrique du Sud
32. Cardiovascular Genetics Laboratory, Hatter Institute for Cardiovascular Research in Africa, Department of Medicine, Groote Schuur Hospital and University of Cape Town, , Cape Town, Afrique du Sud

33. CHU Nantes, Clinique dermatologique, Hôtel Dieu, , Nantes, France

**Mots clefs** : Poikilodermie, myopathie, fibrose pulmonaire, insuffisance pancréatique exocrine, poisson zèbre, FAM111B

**Résumé** :

Contexte : La Poikilodermie Fibrosante Hériditaire (PFH) avec myopathie rétractile et fibrose pulmonaire (POIKTMP [MIM 615704]) a été très récemment décrite par notre équipe. Par un séquençage d'exome complet, nous avons pu identifier des mutations causales dans le gène FAM111B (NM\_198947.3) dont la fonction reste encore inconnue.

Méthode : Nous présentons les données clinico-moléculaires détaillées d'une cohorte de 10 familles dont huit cas sporadiques, incluant six nouveaux cas, ainsi que les résultats des études fonctionnelles réalisées dans le modèle poisson zèbre et sur cultures cellulaires de patients.

Résultats : Les signes majeurs de cette pathologie comprennent : (i) une poikilodermie à début infantile, une hypotrichose et hypohidrose ; (ii) des rétractions multiples, en particulier des triceps suraux ; (iii) une faiblesse musculaire progressive ; (iv) une fibrose pulmonaire à l'âge adulte et (v) également, une insuffisance pancréatique exocrine, une atteinte hépatique, une atteinte hématologique, une atteinte ophtalmologique et éventuellement un retard de croissance staturopondérale. L'IRM musculaire montre typiquement une atrophie musculaire associée à une infiltration adipeuse. L'étude histologique retrouve également une infiltration fibroadipeuse du muscle squelettique et des anomalies sclérodermiformes de la peau. L'étude du gène *FAM111B* a permis d'identifier un hot-spot de mutations faux-sens, localisées dans le domaine peptidase cystéine/sérine de la protéine. Le gène *FAM111B* est conservé chez les primates, mais n'est pas présent chez le poisson zèbre. Nous avons cependant injecté le transcrit muté de hFAM111B dans des embryons de poisson zèbre et observé une réduction de calibre des fibres musculaires comparativement à l'injection du transcrit humain sauvage. Nous avons également réalisé des études in vitro sur des fibroblastes myoinduits de patients et observé des anomalies de la différenciation.

Conclusions : La PFH avec myopathie rétractile et fibrose pulmonaire correspond à une atteinte multisystémique liée à des mutations dominantes dans le gène *FAM111B*. L'observation d'un phénotype myopathique dans le modèle poisson zèbre indique que la voie de signalisation perturbée dans cette pathologie est très conservée entre les espèces. La poursuite des études fonctionnelles dans ce modèle et sur les cellules de patients permettra de mieux identifier la physiopathologie impliquée dans cette pathologie.

**#2702 : Recherche de la maladie de Fabry dans une population de patients douloureux chroniques**

**Auteurs :**

Christophe HUBERT (1), Marie-Pierre BAUDIER (2), Julie LAVIE (2), isabelle COUPRY (2), Laurène DUFIN (1), Sophie TABUTEAU (3), Didier LACOMBE (4), virginie DOUSSET (5), Dominique GERMAIN (6), Cyril GOIZET (4)

1. Plateforme Génome Transcriptome Centre de Génomique Fonctionnelle de Bordeaux, Université de Bordeaux, Bordeaux, France
2. Laboratoire Maladies Rares : Génétique et Métabolisme Hôpital Pellegrin, Université de Bordeaux, Bordeaux, France
3. Direction de la recherche clinique et de l'innovation, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France
4. Service de Génétique Médicale, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France
5. Centre Douleurs Chroniques USN Tastet-Girard, Hôpital Pellegrin, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France
6. Service de Génétique Médicale, Hôpital Raymond Poincaré, Garches, France

**Mots clefs :** NGS, Maladie de Fabry, GLA, douleur chronique, Capture SureSelect, globotriaosylcéramide, prélèvement salivaire

**Résumé :**

L'objectif principal du protocole de recherche biomédicale DOUFABIS est d'évaluer la prévalence de la maladie de Fabry au sein d'une population consultante pour une douleur chronique dans des structures de prise en charge de la douleur.

La maladie de Fabry (MF) est une maladie de surcharge lysosomale liée au chromosome X, due à un déficit en alpha-galactosidase A (alpha-gal), dont la prévalence est estimée entre 1/40000 et 1/11700. Ce déficit enzymatique entraîne des dépôts de globotriaosylcéramide dans les tissus.

La majorité des hommes développent une maladie multisystémique sévère avec notamment une atteinte neurologique sous la forme de douleurs chroniques qui inaugurent la symptomatologie dans l'immense majorité des cas. Les femmes sont également atteintes mais plus modérément avec une apparition plus tardive de la maladie.

Une étude pilote bordelaise (DOUFAB) a montré un cas positif parmi 155 patients inclus issus de consultation pour douleur chronique.

L'étude DOUFABIS vise un recrutement de 1000 patients majoritairement féminins sur une durée de 24 mois via la collaboration de 20 centres de prise en charge de la douleur chronique à l'aide d'un questionnaire clinique.

Le diagnostic de MF sera établi sur un déficit de l'alpha-gal chez les hommes et sur la découverte d'une mutation délétère dans le gène *GLA* chez les femmes. Les analyses biochimiques de l'activité enzymatique seront réalisées sur papier buvard. Les analyses génétiques seront issues d'un prélèvement salivaire Oragen. Les ADN extraits seront traités pour être analysés en séquençage nouvelle génération (NGS) sur MiSeq. La région spécifique du gène *GLA* (30kb) sera analysée par capture SureSelect QXT. Les données générées seront analysées par les logiciels IGV et AVIA.

La technique de détection des mutations du gène *GLA* par NGS ciblé a été mise au point avec l'ADN de 7 patients présentant des mutations connues (substitution ou délétion), réparties dans les 7 exons de *GLA*. Toutes les variations mises en évidence par la technique de séquençage Sanger ont été retrouvées par NGS. Les premiers patients inclus sont en cours d'analyse.

La MF est une maladie métabolique rare de présentation multiviscérale, dont le diagnostic n'est souvent posé qu'après un long délai suivant l'apparition des symptômes. L'initiation du traitement spécifique par enzymothérapie de substitution (ETS) devrait être la plus précoce possible, en particulier chez les hommes atteints.

Les douleurs neurogènes chroniques sont souvent les premiers symptômes rapportés par les malades, mais la MF est rarement diagnostiquée en absence d'une atteinte rénale, cardiaque ou neurovasculaire, qui sont tardives dans l'évolution de la maladie. L'étude DOUFABIS vise à établir si la recherche d'une MF pourrait être utile dans une population de douloureux chroniques, afin d'informer les médecins spécialisés dans la prise en charge de la douleur chronique pour diminuer les délais diagnostiques et permettre la mise en place rapide d'une ETS.

## GÉNÉTIQUE CLINIQUE, DÉVELOPPEMENT, FOETOPATHOLOGIE

**#2706 : Cohorte RaDiCo-AC-ŒIL : mise en place d'une cohorte nationale sur les anomalies congénitales de l'œil afin de mieux comprendre leurs histoires naturelles et leurs déterminismes génétiques, et améliorer ainsi la prise en charge des patients**

### Auteurs :

Nicolas Chassaing (1), Laurence Faivre (2), Hélène Dollfus (3), Audrey Boisron (4), Gaëlle Jouanjan (5), Eric Moser (6), Anne-Claire Coyne (7), Patrick Calvas (1)

1. Service de Génétique Médicale, Inserm 1056, Université Toulouse III, CHU Toulouse, Toulouse, France
2. AnDDi-Rares, Filière de Santé Maladies Rares, Dijon, France
3. SENSGENE, Filière de Santé Maladies Rares, Strasbourg, France
4. Association Microphthalmie France, Association de patients, Angers, France
5. Association GÊNIRIS, Association de patients, Malakoff, France
6. Rétina France, Association de patients, Colomiers, France
7. RaDiCo, Programme National Cohortes Maladies Rares, Inserm UMR-S 933, Paris, France

**Mots clefs :** microphthalmie, anophtalmie, dysgénésies du segment antérieur, aniridie, cohorte, RaDiCo

### Résumé :

L'œil est une structure complexe dont les tissus dérivent de différents feuillets embryonnaires. Les étapes de la mise en place des structures oculaires (induction, différenciation) peuvent être altérées aboutissant à la présence d'anomalies congénitales telles que les anophtalmies, les microphthalmies, les aniridies, ou d'autres dysgénésies du segment antérieur (anomalie d'Axenfeld-Rieger, anomalie de Peters...). L'incidence cumulée de ces malformations peut être estimée à 1 à 2/10.000. Elles sont fréquemment associées à des manifestations extra-oculaires. De même, un retard des acquisitions peut être présent, secondaire à l'atteinte sensorielle, ou directement lié à une atteinte cérébrale développementale et entraînant alors une déficience intellectuelle. Compte tenu de leur faible fréquence, les conséquences visuelles de ces malformations congénitales de l'œil, ainsi que la fréquence des atteintes extra-oculaires et des anomalies du développement psychomoteur sont encore mal connues. Les rares données publiées concernent des cohortes de patients très hétérogènes (atteintes oculaires uni- ou bilatérales, atteintes isolées ou syndromiques, large spectre des malformations oculaires incluses), ce qui rend complexe leur utilisation en pratique clinique. Ainsi, prévoir le pronostic visuel et neurologique d'un enfant chez qui le diagnostic d'anomalie congénitale de l'œil aura été fait en période néonatale ou anténatale et proposer un protocole de soin bien défini se révèle très difficile à l'heure actuelle. De même, les déterminismes génétiques de ces malformations oculaires et leurs implications en termes de pronostic doivent être précisés.

La cohorte RaDiCo-AC-Œil a pour objectifs principaux (i) d'améliorer les connaissances sur l'histoire naturelle des atteintes oculaires et extra-oculaires associées à ces anomalies du développement, notamment en ce qui concerne les pronostics visuel et neurologique (ii) d'en identifier les facteurs pronostics (iii) de définir les standards pour la prise en charge de ces patients (iv) d'évaluer le vécu des patients et de leur famille au cours du diagnostic et de la prise en charge de ces atteintes oculaires, et (v) de mieux comprendre les bases moléculaires de ces malformations.

Afin de répondre à ces objectifs, cette cohorte recrutera, au travers de plus de 50 centres d'inclusion, les patients atteints de ces malformations oculaires et assurera un suivi pendant 10 ans. Elle s'appuiera pour cela sur l'expertise et l'aide opérationnelle de la plateforme RaDiCo, sur deux filières de Santé Maladies Rares (SENSGENE et AnDDi-Rares) et sur l'aide de trois associations de patients fortement impliquées dans ces pathologies (Association Microphthalmie France, Gêniris, Rétina France).

**#2713 : Déficit antéhypophysaire combiné et anomalie préaxiale des extrémités chez une patiente porteuse d'une mutation de *GLI2***

**Auteurs :**

Perrine Brunelle (1), Marie Legendre (2), Serge Amselem (2), Iva Gueorguieva (3), Julien Ghesquiere (4), Sylvie Manouvrier-Hanu (1), Catherine Vincent-Delorme (1)

1. Génétique clinique, Hôpital Jeanne de Flandre, CHRU de Lille, LILLE, France
2. Génétique et Embryologie médicales, Hôpital Armand Trousseau, Paris, France
3. Endocrinologie, Diabétologie, Gynécologie pédiatrique, Hôpital Jeanne de Flandre, CHRU de Lille, LILLE, France
4. Médecine néonatale, Centre Hospitalier d'Arras, Arras, France

**Mots clefs :** Déficit antéhypophysaire, anomalies des extrémités, *GLI2*, *GLI3*, voie de signalisation Sonic hedgehog

**Résumé :**

Les déficits antéhypophysaires congénitaux touchent environ un enfant sur 3500. Ils sont génétiquement hétérogènes, liés à des anomalies de divers gènes codant essentiellement des facteurs de transcription. Parmi ceux-ci, *GLI2* a surtout été impliqué dans des microformes d'holoprosencéphalie, et des déficits hypophysaires isolés. Nous rapportons l'observation d'une fillette présentant une mutation de *GLI2* responsable d'un déficit antéhypophysaire associé à des anomalies des extrémités, une dysmorphie faciale, et de discrètes difficultés d'apprentissage. Alice est la première enfant d'un couple jeune et non apparenté, née macrosome à terme, en présentation du siège. A la naissance est noté un hypotélorisme, puis, dès J2, des hypoglycémies modérées conduisant au diagnostic d'insuffisance somatotrope et thyroïdienne. L'IRM a mis en évidence une hypoplasie de l'antéhypophyse et une ectopie de la posthypophyse. Le bilan a montré une malformation du vestibule laryngé avec trachéomalacie, une malformation cardiaque mineure à type de communication inter-atriale et des 1<sup>ers</sup> métatarsiens et métacarpiens courts et trapus, responsables d'une implantation haute des 1<sup>ers</sup> rayons, ainsi qu'une clinodactylie des 2<sup>èmes</sup> orteils. Le séquençage des gènes impliqués dans les hypopituitarismes a mis en évidence une mutation de *GLI2* (c.3433C > T / p.Gln1145\*) survenue *de novo*. L'implication de *GLI2* dans les déficits antéhypophysaires isolés ou associés à des anomalies des extrémités à type d'hexadactylie postaxiale est connue, tandis que des anomalies préaxiales au niveau des orteils sont exceptionnellement observées. Celles-ci sont plus volontiers liées à des mutations de *GLI3* (syndrome de Greig). *GLI2* et *GLI3* codent des protéines impliquées dans la voie de Sonic Hedgehog (SHH), qui joue un rôle primordial dans le développement de nombreux organes et la polarisation pré/postaxiale des membres. Elles agissent soit sous forme complète GLI-A (activatrice), soit sous forme clivée GLI-R (répressive). GLI3-R est essentielle au développement et à l'identité du 1<sup>er</sup> rayon. Il a néanmoins été démontré chez la souris que, du côté préaxial du bourgeon de membre, les protéines Gli3 et Gli2 exercent des rôles complémentaires pour réguler l'identité des doigts/orteils. En l'absence de Gli2, la durée d'expression de Gli3 semble notamment essentielle. L'observation inhabituelle d'une atteinte préaxiale des membres inférieurs liée à une mutation de *GLI2* souligne la complexité de cette voie de signalisation, et les interactions des protéines qui la régulent. Elle soulève la question de l'existence de phénotypes chevauchants et l'éventuelle implication de variations de *GLI3* ou de ses éléments régulateurs susceptibles de modifier les conséquences phénotypiques des mutations de *GLI2* au niveau de la partie préaxiale du bourgeon de membre.

**#2720 : Étude épidémiologique des recours aux soins d'urgence par les patients porteurs d'une mutation  
FBN1 en Côte d'Or**

**Auteurs :**

Laurent Boidron (1), Aurélie Charpin (2), Riadh Tfifha (1), Elodie Gautier (2), Christine Binquet (3), Hervé Devilliers (4), Agnès Soudry (3), Anne-Laure Mosca-Boidron (5), Nolwenn Jean (2), Bruno Mangola (1), Jean-Christophe Eicher (6), Laurence Faivre (2)

1. Département de Médecine d'Urgence, CHU de Dijon, Dijon, France
2. Centre de Génétique, Centre de Référence Maladies Rares "Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs", CHU de Dijon, Dijon, France
3. Centre d'Investigation Clinique, CHU de Dijon, Dijon, France
4. Service de Médecine Interne et Systémique, CHU de Dijon, Dijon, France
5. Service de Cytogénétique et Génétique Moléculaire, CHU de Dijon, Dijon, France
6. Service de Cardiologie, CHU de Dijon, Dijon, France

**Mots clefs :** Syndrome de Marfan, FBN1, Qualité de prise en charge, Urgences, Centre 15

**Résumé :**

Le syndrome de Marfan (MFS) est une maladie systémique du tissu conjonctif qui se caractérise par une combinaison variable de manifestations cardiovasculaires, musculo-squelettiques, ophtalmologiques et pulmonaires. Dans l'immense majorité des cas, le MFS est dû à des mutations AD du gène *FBN1* qui code pour la fibrilline-1, une protéine essentielle du tissu conjonctif. La prise en charge doit donc être multidisciplinaire avec pour objectif de surveiller et de limiter la dilatation aortique qui conditionne le pronostic de la maladie. Si le suivi est régulier et que la prise en charge est adéquate, les patients présentent une espérance de vie proche de celle de la population générale.

Lors d'accidents, les atteintes des tissus conjonctifs peuvent entraîner une majoration des traumatismes chez ces patients. En urgence, la connaissance de ces informations est donc capitale pour assurer une prise en charge de qualité. Lors d'un appel au Centre 15, le patient bénéficie d'un entretien avec le médecin urgentiste régulateur qui adapte la réponse au vu de la gravité de la situation et des antécédents du patient. Dans cette étude nous avons cherché à évaluer la fréquence, la cause et la qualité de prise en charge des patients porteurs d'une mutation du gène *FBN1*, lors de recours au SAMU-Centre 15. Entre le 30 avril 2008 et le 1<sup>er</sup> octobre 2015, nous avons recueilli l'ensemble des appels au Centre 15 de Côte d'Or des 37 patients mutés connus. Nous avons colligé le nombre et la récurrence des appels, ainsi que les motifs en lien avec la pathologie (douleur thoracique, dyspnée et pathologie traumatique). Nous avons recherché la connaissance de l'antécédent de MFS dans le dossier médical et la décision adaptée du médecin régulateur.

En Côte d'Or, 37 patients ont été diagnostiqués porteurs d'une mutation *FBN1*. Parmi eux, 16 ont effectué 25 recours au Centre 15 en 7 ans. Plus de la moitié des recours (60%) avaient un lien potentiel avec le MFS (10 appels pour douleur thoracique et 5 pour dyspnée). La traumatologie représente 5/25 appels et nous n'avons pas noté de recours pour des motifs ophtalmologiques. La présence dans le dossier de l'antécédent de MFS était présente dans 2/25 des recours (8 %). A posteriori, la décision prise par le médecin régulateur était adaptée dans 40% de cas.

La moitié des patients porteurs d'une mutation *FBN1* ont eu recours au Centre 15 en majorité pour des motifs liés à leur pathologie. La notion de MFS n'est connue que dans 8 % des cas lors de la prise en charge en urgence ce qui en diminue la qualité et représente un danger pour le patient. Les pistes d'amélioration passent probablement par une inscription des patients MFS sur la liste des patients remarquables du Centre 15. Il semble également important de resensibiliser les patients à la transmission de l'information lors de leurs prises en charge en urgence.

#2723 : Insuffisance de signalisation cellulaire par les sémaphorines et syndrome olfacto-génital  
(syndrome de Kallmann)

**Auteurs :**

Séverine Marcos (1), Corinne Fouveaut (2), Chrystel Leroy (2), Carine Monnier (3), Fabrice Ango (3), Catherine DODE (2), Jean-Pierre HARDELIN (4)

1. EA7331, Génétique, physiopathologie et approches thérapeutiques des maladies héréditaires du système nerveux, Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Paris, France
2. Laboratoire de Biochimie et génétique moléculaire, Hôpital Cochin, APHP, Paris, France
3. IGF, CNRS UMR5203 INSERM U1191, Université de Montpellier, Montpellier, France
4. Inserm UMRS1120, Département de neurosciences, Institut Pasteur, Paris, France

**Mots clefs :** syndrome de Kallmann, plexine, souris, GnRH, migration neuronale, infertilité, mutations faux-sens, système olfactif

**Résumé :**

Chez les mammifères, l'axe endocrinien impliqué dans le développement pubertaire et la fertilité est sous le contrôle de la GnRH, une hormone sécrétée par des cellules neuroendocrines situées dans l'hypothalamus. Au cours de l'embryogénèse, ces cellules migrent depuis l'épithélium nasal vers le cerveau le long des nerfs olfactifs. Le syndrome de Kallmann (KS) associe un hypogonadisme hypogonadotrope congénital dû à un déficit en GnRH, et une atteinte de l'odorat (anosmie/hyposmie) avec agénésie des bulbes olfactifs. Le KS est génétiquement hétérogène : une dizaine de gènes responsables ont déjà été identifiés. Nous avons montré l'existence, chez certains patients, de mutations délétères de *SEMA3A* (Hanchate et al., 2012). La sémaphorine-3A est une protéine sécrétée impliquée dans le guidage des axones au cours du développement embryonnaire. Nous avons recherché des mutations dans les gènes codant son récepteur, la plexine A1 (*PLXNA1*), et ses co-récepteurs, les neuropilines 1 et 2 (*NRP1* et *NRP2*), tous trois exprimés dans la région naso-frontale au cours du développement. Les exons codants de ces gènes ont été analysés par séquençage NGS chez 216 patients. Nous avons trouvé 7 mutations faux-sens hétérozygotes dans *PLXNA1* (R528W, H684Y, G720E, R740H, L1464V, K1618T, C1744F), 3 dans *NRP1* (G728S, I857M, R207H) et 3 dans *NRP2* (T242M, R334C, G484S), et prédites par les logiciels SIFT et PolyPhen-2 comme ayant un effet délétère. Nous avons reproduit ces mutations par mutagenèse dirigée dans le vecteur d'expression PRK5 et leur étude fonctionnelle est en cours, en collaboration avec le laboratoire du Dr Ango à l'Institut de génomique fonctionnelle de Montpellier. Les premiers résultats montrent, pour certaines de ces mutations, une baisse de la production ou un défaut de la localisation subcellulaire de la protéine. L'une des mutations, qui porte sur le dernier nucléotide de l'exon 28 de *PLXNA1*, entraîne un défaut d'épissage du message. Nous avons réalisé une analyse détaillée d'embryons et nouveaux-nés de souris mutantes homozygotes pour qui le gène de la Plexine A1 a été invalidé (Yoshida et al., Neuron, 2006) qui montre un phénotype semblable à KS : 5 des 18 embryons analysés ont un défaut sévère de la migration des neurones à GnRH, qui n'arrivent pas à pénétrer dans le cerveau. A ce défaut de migration est associée l'absence de contact des nerfs olfactifs avec le cerveau. Chez les nouveaux-nés, nous avons observé une diminution du marquage GnRH dans l'hypothalamus, et une localisation ectopique de nombreux neurones à GnRH dans le cerveau antérieur. Par ailleurs, l'absence de plexine A1 chez les souris mâles adultes entraîne une réduction de la fertilité qui s'accompagne d'une diminution significative de la taille des vésicules séminales. Ces résultats montrent l'importance de la signalisation cellulaire par les sémaphorines dans le développement du système olfactif et la migration des neurones à GnRH.

**#2727 : Les mutations du gène TCF4, responsable du syndrome de Pitt-Hopkins, représentent une cause fréquente de déficience intellectuelle plus ou moins syndromique.**

**Auteurs :**

Laura MARY (1), Irina GIURGEA (2), Elise SCHAEFER (3), Francesca MATTIOLI (4), Claire REDIN (4), Salima EL CHEHADEH (3), Laurence FAIVRE (5), David GENEVIEVE (6), Estelle COLIN (7), Magalie BARTH (7), Christine COUBES (6), Bérénice DORAY (3), Elisabeth FLORI (8), Jean-Louis MANDEL (4), Bénédicte GERARD (1), Amélie PITON (4)

1. Laboratoire de Diagnostic Génétique, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
2. Département de Génétique , CHU Henri Mondor, Paris, France
3. Service de Génétique Médicale, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
4. Department of Translational Medicine and Neurogenetics, IGBMC, Illkirch, France
5. Centre de Génétique et Centre de Référence Anomalies du développement et Syndromes malformatifs, CHU Dijon, Dijon, France
6. Département de Génétique Médicale, Centre de Référence Maladies Rares Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs Sud-Languedoc Roussillon, CHU Montpellier, Montpellier, France
7. Département de Biochimie et de Génétique, CHU Angers, Angers, France
8. Service de Cytogénétique, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France

**Mots clefs :** Pitt Hopkins, déficience intellectuelle, génétique inverse, TCF4, séquençage haut débit

**Résumé :**

Le séquençage haut-débit (HTS) de nombreux gènes candidats (séquençage d'exome ciblé) ou de l'intégralité des gènes (séquençage d'exome entier) permet d'améliorer de façon considérable le diagnostic des déficiences intellectuelles (DI) n'évoquant pas un syndrome particulier. Ces études permettent de mettre en évidence des gènes mutés de façon récurrente dans la DI mais également d'élargir le spectre clinique associé à des mutations dans un gène particulier, en surpassant le biais clinique de recrutement existant pour le séquençage Sanger de gène candidat. Un exemple assez illustratif est l'ensemble des mutations identifiées par HTS dans le gène *TCF4*. De nombreuses mutations tronquantes et faux-sens dans le facteur de transcription *TCF4* sont depuis longtemps connues pour être responsables du syndrome de Pitt-Hopkins (PTHS), qui associe une déficience intellectuelle sévère à un retard de développement moteur, une absence de langage, des troubles autistiques, des troubles de ventilation, une constipation et une dysmorphie faciale particulière. Sur une cohorte de 314 patients adressés pour DI plus ou moins isolée non évocative d'un syndrome en particulier et analysés en HTS ciblé avec un panel de 220 à 275 gènes connus pour être impliqués dans des troubles cognitifs, nous avons identifié 6 patients (~2% des patients) avec une mutation pathogène dans le gène *TCF4*. Tous ces patients sont porteurs de mutations (substitutions ou petite délétion) avérées pathogènes (mutations tronquantes ou faux-sens déjà décrit comme mutation) et survenant *de novo*. Nous avons, pour ces 6 patients, mené une analyse clinique a posteriori basée sur deux scores cliniques permettant d'évaluer le degré de l'atteinte de type PTHS de patients avec DI (Score de Marangi et score de Whalen) et pu montrer que la sévérité des symptômes spécifiques du PTHS est assez variable suivant les patients. D'autres cas de déficience intellectuelle modérée à sévère sans dysmorphie ou autre signe patent de PTHS avec une mutation (ou disruption) de *TCF4* découverts en NGS ont déjà été rapportés dans la littérature (Hamdan et al., 2012 ; Hamdan et al., 2014). L'ensemble de ces données permet d'affirmer que les mutations dans le gène *TCF4* ont une prévalence plus importante qu'attendue avec un spectre clinique associé plus large que la définition actuelle du PTHS, ce qui pourrait amener à suspecter une mutation dans le gène *TCF4* dans de nombreux cas de DI sans hyperventilation ou constipation et avec dysmorphie modérée.

**#2749 : Echocardiographic strain as a new tool to assess early phase of hypertrophic cardiomyopathy due to sarcomeric mutations**

**Auteurs :**

Guillaume Baudry (1), Nicolas Mansencal (2), Riadh Cheikh-Khelifa (1), Pascale RICHARD (1), Richard Isnard (1), Olivier Dubourg (2), Michel Komajda (1), Philippe Charron (3)

1. centre de référence maladies cardiaques héréditaires, CHU Pitié-Salpêtrière , Paris, France
2. centre de référence maladies cardiaques héréditaires, CHU Ambroise Paré, Paris, France
3. centre de référence maladies cardiaques héréditaires, CHU Ambroise Paré, Boulogne-Billancourt, France

**Mots clefs :** cardiologie, cardiomyopathie hypertrophique, échocardiographie

**Résumé :**

**Introduction:**

Hypertrophic cardiomyopathy (HCM) is a genetic disease with delayed cardiac expression. Our objective was to characterize global and regional LV myocardial strain by two-dimensional imaging in sarcomeric HCM families and hypothesized that early systolic dysfunction, before hypertrophic stage, may be diagnosed by this technique.

**Methods and results:**

We analyzed 79 adults: HCM patients with LV hypertrophy (LVH+, n=38), mutation carriers without LV hypertrophy (LVH-/G+, n=20), and normal control subjects (n=21).

Maximal 2D LV wall thickness was 9.8mm (IQ:8.8/11.3) in LVH-/G+ group and not different from controls (10mm, IQ: 9.2/10.7). We observed that LV Global longitudinal strain (GLS) was not different in LVH-/G+ compared with controls (-20.6% IQ:-24.2/-18.3) vs -22,9% (IQ:-26.8/-20.9) but was reduced in HCM patients (-14.1% IQ:-18.5/-11.8) although a normal ejection fraction. Interestingly, regional peak longitudinal strain was similar in LVH-/G+ and controls except in four segments: basal anteroseptal (BAS) wall (-16% vs -19%, p=0.018), basal inferoseptal wall (-16.0% vs -19.0%, p=0.047), basal inferior wall (-21.0% vs -24.0%, p=0.006) and mid anteroseptal wall (-21.0% vs -22.5%, p=0.022). We evaluated diagnostic accuracy after ROC analysis. Regional BAS strain < -16.5% yielded a sensitivity of 57% and a specificity of 90% to differentiate LVH-/G+ patients from controls. We also evaluated accuracy of ratio between normal and abnormal segments. Septo-basal/Latero-basal strain ratio < 0.76 yielded a sensitivity of 73% and a specificity of 92% to differentiate LVH-/G+ patients from controls.

**Conclusion:**

We observed that regional longitudinal strain, but not global strain, was significantly reduced at early stage of HCM before development of LV hypertrophy. This suggests the integration of GLS in the evaluation of HCM relatives to better identify mutation carriers and early LV abnormalities, who may benefit from close cardiac follow-up and early therapeutic management.

#2750 : Pregnancy in women with a cardiomyopathy: outcomes and predictors from a retrospective monocentric cohort

**Auteurs :**

Gilles Billebeau (1), Etienne Martin (2), Riadh Cheikh-Khelifa (1), Daniele Vauthier-Brouzes (2), Estelle Gandjbakhch (1), Richard Isnard (1), Jacky Nizard (2), Marc Dommergues (2), Philippe Charron (3)

1. centre de référence maladies cardiaques héréditaires, CHU Pitié-Salpêtrière , Paris, France
2. Service de Gynécologie-Obstétrique, CHU Pitié-Salpêtrière , Paris, France
3. centre de référence maladies cardiaques héréditaires, CHU Ambroise Paré, Boulogne-Billancourt, France

**Mots clefs :** Pregnancy; cardiology; cardiomyopathies, complication

**Résumé :**

**Background and objective:** Cardiomyopathies constitute a group of heart muscle diseases that are usually of genetic origin and mostly affect young patients. Apart from risk of transmission, pregnancies are estimated at risk for complications but the natural history of the mother and the child are poorly characterized, with discordant results, and predictors have not been specifically studied. Our aim was to evaluate the prevalence of acute cardiac and obstetrical peripartum event in women with a cardiomyopathy, excluding "peripartum cardiomyopathy".

**Methods and results:** In this monocentric and retrospective study in a referral center for cardiomyopathies, we included 43 pregnancies in 36 women with either dilated cardiomyopathy (DCM, n=10), hypertrophic cardiomyopathy (HCM, n=28), arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy (ARVC, n=3), tachycardia-induced-cardiomyopathy (TCM, n=1) or non-compacted left ventricle (NCLV, n=1). We observed a major cardiovascular event in 14 women including 6 acute heart failures (5 DCM, 1HCM) and 3 cardiac deaths, of which 2 occurred in cases that did not follow our usual multidisciplinary protocol. CARPREG score was predictive of maternal complication rate (complication rate 67%, 33%, 25% in women with CARPREG score of 2, 1 and 0 respectively) however major complications occurred (heart failure, asymptomatic degradation of LVEF, symptomatic aggravation of pulmonary artery hypertension) in 3 women with 0 risk factors. LV ejection fraction alone, gradient in HCM, ZAHARA or WHO scores were less discriminant than CARPREG for maternal outcome. Preterm delivery was observed in 23% of total pregnancies, neonates respiratory distress in 9%, intrauterine growth retardation in 26%, hypoglycemia in 26%, fetal death in 7% but no neonatal death.

**Conclusion:** Pregnancy in women with a Cardiomyopathy is a high risk period for both women and neonates. The highest risk is observed (i) in women who did not benefit from an early multidisciplinary team management, and (ii) in DCM patients as compared to HCM. Prediction of risk with CARPREG scoring is appropriate but needs to be improved.

**#2751 : Identification de deux nouvelles mutations du gène Mecp2**

**Auteurs :**

SIHAM HALLAL (1), Amine Kemache (1), ZAHRA Sadi MAHAMMED (1), OMAR FEDDAL (1), ZAHRA chami (1), Asma Djennane (1), Arezki Berhoune (1), Lyès Yargui (1)

1. Laboratoire central de Biochimie, CHU Mustapha-Alger-Algérie, Alger, Algérie

**Mots clefs :** Syndrome de Rett, Mecp2, gène, mutations

**Résumé :**

Notre laboratoire s'est spécialisé depuis quelques années dans le diagnostic moléculaire de certains syndromes entraînant une arriération mentale chez l'enfant. Parmi eux, le syndrome de Rett. Celui-ci se caractérise par un trouble grave et global du développement du système nerveux central.

Il est causé par des mutations du gène Mecp2 (methyl-CpG-binding protein 2) en Xq28, il comprend 4 exons, dont le premier est non codant. Plus de 200 mutations ont été décrites à ce jour.

L'analyse complète par séquençage direct du gène MECP2 chez 75 patientes algériennes ; dont l'âge moyen est de 7±3 ans nous a permis de mettre en évidence 20 mutations différentes. Il s'agit de mutations fréquemment citées, localisées pour la plupart au niveau de l'exon 4 : Des mutations non-sens p.R168X, p.R255X, , p.R270X, p.R294X, p.Q297X, faux-sens (p.T158M, p.R306C, p.E 394 K, p.K 135 E), et des mutations frameshift (c.Del 806 G, c.1119-1189 Del71, c.1450-1453 Del4, c.1155-1197Del44, c.1157-1197 Del41). Seules deux mutations au niveau de l'exon trois ont été mises en évidence p.R106W, et p. P152R.

Les deux mutations non répertoriées, identifiées concernent 2 patientes :- La patiente B.R âgée de 3 ans suivie en Pédiatrie pour retard psychomoteur, comportement autistique avec microcranie, et des mouvements stéréotypés des mains. Il s'agit de la mutation c.752-755 Del 4.

- La patiente A.H âgée de 10 ans, qui se présente en consultation neurologique, avec un tableau similaire, associée à une encéphalopathie avec épilepsie, stable sous traitement. On note qu'elle est issue d'un mariage consanguin. Elle présente la mutation p.E282X.

**#2756 : Le retard mental dans notre population pédiatrique : Analyse moléculaire et décodage  
étiologique au cours des cinq dernières années**

**Auteurs :**

SIHAM HALLAL (1), ZAHRA Sadi MAHAMMED (1), OMAR FEDDAL (1), ZAHRA chami (1), Asma Djennane (1), belaid Imessaoudene (2), Arezki Berhoune (1), Lyès Yargui (1)

1. Laboratoire central de Biochimie, CHU Mustapha-Alger-Algérie, Alger, Algérie
2. laboratoire central de biologie, EHS BEN AKNOUN, Alger, Algérie

**Mots clefs :** Retard mental, gènes, mutation

**Résumé :**

Le retard mental recouvre les anciennes notions d'arriération mentale et de déficience intellectuelle. Il est considéré comme un trouble global du développement dans lequel s'intrique des perturbations cognitives et des malformations multi-viscérales.

Son évocation est purement clinique, si bien que l'identification de l'anomalie moléculaire responsable est nécessaire pour confirmer le diagnostic.

Le nombre de gènes incriminés dépasse les milles, et seules 90 ont été identifiés.

La demande exponentielle, durant ces dernières années par nos cliniciens, nous a poussé à mettre au point en fonction des capacités techniques de notre laboratoire, le diagnostic moléculaire de 4 maladies : syndrome de l'X Fragile (gène FMR1), le syndrome de Prader Willi (SNRPN), le syndrome d'Angelman (UBE3A), et le syndrome de Rett (MECP2).

Sur une période de 5 années (Juin 2010-Juin 2015), l'examen de 560 enfants d'âge moyens  $6\pm 3$  ans, nous a permis de mettre une étiquette étiologique sur 48 enfants, dont l'âge moyen est de  $9\pm 4$  ans.

Les résultats de l'analyse moléculaire ont montré :

32 Cas d'X Fragile d'âge moyen  $12\pm 3$  ans, 19 cas de Prader Willi d'âge moyen  $10\pm 5$  ans, 8 cas d'Angelman d'âge moyen  $3\pm 1$  ans, et 25 cas de syndrome de Rett d'âge moyen  $7\pm 3$  ans.

La déficience mentale reste un enjeu moyen de santé publique. Ne bénéficiant pas de traitement spécifique, pour la plupart. Notre laboratoire se propose de porter un conseil génétique adapté aux familles concernées.

**#2758 : Diagnostic enzymatique et moléculaire de la maladie de Gaucher : A propos de onze formes pédiatriques traitées au CHU Mustapha d'Alger**

**Auteurs :**

SIHAM HALLAL (1), ZAHRA Sadi MAHAMMED (1), DACINE AZOUAOUI (1), Amine Kemache (1), ZAHRA chami (1), Asma Djennane (1), belaid Imessaoudene (2), A Hadji-Lehtihe (3), S Sokhal-Boudella (3), Arezki Berhoune (1), Lyès Yargui (1)

1. Laboratoire central de Biochimie, CHU Mustapha-Alger-Algérie, Alger, Algérie
2. laboratoire central de biologie, EHS BEN AKNOUN, Alger, Algérie
3. Service de Pédiatrie A, CHU Mustapha-Alger-Algérie, Alger, Algérie

**Mots clefs :** Mutation, maladie de Gaucher, N370S, L444P, GBA, gène

**Résumé :**

La maladie de Gaucher est la maladie de surcharge lysosomale la plus rencontrée dans notre pratique quotidienne spécialisée. Elle est due à une déficience en  $\beta$ -glucosidase acide.

Depuis plusieurs décennies, notre laboratoire effectue le diagnostic phénotypique par détermination de l'activité enzymatique de la  $\beta$ -glucosidase acide intraleucocytaire par méthode fluorimétrique. Le diagnostic génotypique, a été introduite à partir de l'année 2010, par étude du gène *GBA*. Cependant, nous nous limitons à la recherche des mutations récurrentes (N370S, L444P, 84 GG) ; par PCR suivie d'une digestion enzymatique. Les profils anormaux sont vérifiés par séquençage. Quand au suivi des patients, une fois le traitement instauré, il est assuré par le dosage de la chitotriosidase plasmatique déterminée par méthode spectrophotométrique.

Sur un total de 328 demandes provenant des services de pédiatrie, médecine interne, et neurologie de tout le territoire national, le diagnostic de la maladie de Gaucher a porté sur 78 patients, avec une activité en  $\beta$ -glucosidase acide intra-leucocytaire inférieur à 0.6 nmol/h/mg de protéines.

Le diagnostic génotypique a porté jusqu'à présent que sur l'ensemble de famille des 11 enfants traités au niveau de la pédiatrie du CHU Mustapha, dont l'âge moyen est de  $8\pm 5$  ans. Ceci nous a aidé à définir la forme clinique, ou 6 d'entre eux présentaient le type III de la maladie en portant la mutation L444P à l'état homozygote. Trois autres étaient composite (N370/L444P), (N370S/ autre mutation non recherchée dans notre étude), un enfant de type I ; homozygote pour N370S, et pour seulement une famille aucune mutation récurrente n'a été retrouvée. Par ailleurs, cette étude moléculaire a permis le dépistage des hétérozygotes, indispensable pour le conseil génétique.

#2759 : Mutations in MT-ND5 gene in family with MIDD2

**Auteurs :**

MOUNA TABEBI (1), MOUNA MNIF (2), LEILA KESKES-AMMAR (1), HASSEN KAMOUN (3), MOUHAMED ABID (2), FAIZA FAKHFAKH (4)

1. faculté de médecine de sfax, , SFAX, Tunisie
2. Service d'endocrinologie, C.H.U. Habib Bourguiba de Sfax, , SFAX, Tunisie
3. faculté de médecine de sfax, , SFAX, France
4. Faculté de sciences de sfax, , SFAX, Tunisie

**Mots clefs :** MT-ND5, MIDD2, mitochondrial DNA

**Résumé :**

The ND5 subunit is a hydrophobic subunit of complex I encoded by the mitochondrial genome. The central fragment of MT-ND5 constitutes the most conserved region, exhibiting the highest sequence similarity to cation/H1 antiporters. As well, the *ND5* gene was associated with a prevalent ocular clinical expression, but also with MELAS, Leigh syndrome and MIDD.

In this report, we described a Tunisian family with clinical features of MIDD2 (Mitochondrial Inherited Diabetes type 2 and Deafness). The sequencing analysis of the whole mitochondrial DNA in this family revealed the absence of the m.3243A>G (*tRNA<sup>Leu(UUR)</sup>*) and the m.14709T>C (*tRNA<sup>Glu</sup>*) mutations but revealed four variations in the mitochondrial ND5 gene (m.12362C>T, m.12705T>C, m.13105G>A and m.13276G>A) at the homoplasmic state. These variations were absent in the normal population control and were frequently reported in various phenotypes including MELAS, LHON, MERRF and Leigh syndrome as well as mitochondriopathy syndromes. But only the non-synonymous variations m.13105G>A (I257V) and m.13276G>A (M314V), were described to be implicated in MIDD2.

The precise contribution of the ND5 protein to complex I function is not entirely clear, although it may be important for ubiquinone binding and thus, the electron transfer within the complex. In addition, the physiological importance of the ND5 subunit has been shown by studies reporting that complex I dependent respiration is tightly regulated by ND5 gene expression.

## GÉNÉTIQUE CLINIQUE, DÉVELOPPEMENT, FOETOPATHOLOGIE

**#2767 : Agénésies apparemment isolées du corps calleux de diagnostic anténatal : diagnostics chez les enfants nés et conséquences pour le conseil génétique prénatal à propos d'une cohorte de 100 patients**

### Auteurs :

Marie-Lorraine Monin (1), Cyril Mignot (1), Thierry Billette de Villemeur (2), Jean-Marie Jouannic (3), Catherine Garel (4), Fabien Lesne (1), Anne Faudet (1), Elodie Schaerer (1), Céline Bordet (1), Tania Attié-Bitach (5), Marie-Laure Moutard (2), Delphine Héron (1)

1. Département de Génétique, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, APHP, Paris, France
2. Service de Neuropédiatrie, Hôpital Armand Trousseau, APHP, Paris, France
3. Service de Gynécologie-Obstétrique, Hôpital Armand Trousseau, APHP, Paris, France
4. Service de Radiologie pédiatrique, Hôpital Armand Trousseau, APHP, Paris, France
5. Service d'Histologie, d'Embryologie et de Cytogénétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, APHP, Paris, France

**Mots clefs :** agénésie du corps calleux, diagnostic prénatal, pronostic

### Résumé :

L'agénésie du corps calleux (ACC) est actuellement dépistée en période anténatale. Par opposition à l'ACC « associée » (ACCa), une ACC est « apparemment isolée » (ACCi) si les explorations concluent à l'absence de 1) toute autre malformation ou anomalie à l'échographie et à l'IRM fœtales, 2) remaniement chromosomique pathogène sur le caryotype fœtal (plus récemment sur l'ACPA, Analyse chromosomique par puce à ADN) et, pour certains, 3) l'absence d'antécédent familial de déficience intellectuelle (DI). La littérature rapporte un bon pronostic développemental des ACCi dans 70% des cas, et une DI dans 30% des cas, sans pouvoir prédire sa survenue et sa gravité.

**Objectif :** Préciser les syndromes et/ou les anomalies génétiques associées aux ACCi, afin d'améliorer le conseil génétique prénatal.

**Patients et méthodes :** Entre 2005 et 2013, 417 consultations de neurologie fœtale et/ou de génétique prénatale ont été réalisées dans le Centre de diagnostic prénatal de l'Est parisien pour ACC. L'ACC était isolée dans 188 cas (45%). Dans ce groupe, 52 grossesses ont été interrompues (28%), et l'issue de la grossesse n'est pas connue pour 25 femmes (13%). 111 enfants sont nés, dont 11 ont été perdus de vue. Les 100 enfants restants ont été régulièrement suivis en neuropédiatrie, et ceux présentant des difficultés d'apprentissage ont bénéficié de consultations et d'explorations génétiques (dont ACPA). Nous rapportons l'étude clinique et génétique de ces 100 enfants.

**Résultats :** L'ACCi s'est révélée une ACCa chez 11 patients présentant une dysmorphie et/ou des signes morphologiques mineurs à la naissance, soit un taux de faux-négatifs de 11%. 69 enfants (69%) ont un développement psychomoteur normal, 7 enfants sont trop jeunes pour conclure, et 24 enfants (24%) ont une DI (comprenant les 11 avec dysmorphie) Parmi ceux-ci, 8 diagnostics cliniquement suspectés (33%) ont été confirmés par étude ciblée : syndrome de Coffins-Siris lié au gène *ARID1B* (n=5), Rubinstein-Taybi avec mutation du gène *CREBBP* (n=1), Mowatt-Wilson avec mutation du gène *ZEB2* (n=1), Pitt-Hopkins avec délétion interstitielle du chromosome 18 emportant *TCF4* (n=1). Il n'y a pas eu d'autre diagnostic par ACPA.

**Discussion:** Cette étude rejoint la littérature sur le bon pronostic de l'ACCi dans la majorité des cas. Certains syndromes sont révélés en postnatal par des signes non visibles à l'échographie, représentant un risque d'erreur de 11%. Cette étude met en lumière la grande hétérogénéité étiologique des ACCi, et l'émergence d'*ARID1B* comme le gène le plus souvent impliqué dans les ACC avec DI.

**Conclusion :** Le conseil prénatal pourrait être amélioré par la recherche d'anomalie dans des gènes connus pour être responsables d'ACC avec DI, en plus de l'ACPA. Le faible taux de diagnostics génétiques malgré un phénotypage précis montre que de nombreux gènes d'ACC, avec ou sans DI, restent à découvrir.

**#2783 : Orphanet, un outil d'interopérabilité entre les données cliniques et génétiques pour les maladies rares.**

**Auteurs :**

Catherine Gonthier (1), Sonja Janmaat (2), David Kelly (1), Valérie Lanneau (2), Charlotte Gueydan (1), Ana Rath (1), Annie Olry (2)

1. Orphanet - US14, Inserm, Paris, France
2. Orphanet - US14, Inserm, paris, France

**Mots clefs :** Maladies rares, interopérabilité, base de données

**Résumé :**

L'avancée des connaissances dans le domaine des maladies rares est aujourd'hui accélérée par l'explosion de la quantité de données génétiques issues des nouvelles technologies de séquençage. L'intégration de ces données aux connaissances cliniques est un enjeu majeur et nécessaire pour favoriser tant la recherche que le diagnostic clinique et la prise en charge des patients dans les systèmes de soins.

Orphanet ([www.orpha.net](http://www.orpha.net)) est connue pour sa base de données de référence internationale sur les maladies rares. Sa mission principale est de fournir une information scientifique de qualité sur les 6000 maladies rares aujourd'hui répertoriées.

Chaque maladie rare est identifiée par un code unique appelé le code ORPHA. Elles sont définies par leur présentation clinique, organisées par spécialités médicales et annotées avec des informations médicales (âge d'apparition, âge de décès, mode de transmission, phénotypes) et des textes de référence à destination des professionnels (médecins, urgentistes, etc...) et du grand public.

Orphanet intègre également les connaissances génétiques disponibles dans la littérature. 3469 gènes impliqués dans les maladies rares y sont recensés et chacune des relations gène-maladie est qualifiée : gène causal dans la maladie, gène modificateur, facteur de susceptibilité, mutations touchant les lignées germinales ou somatiques et/ou mutations entraînant une perte ou un gain de fonction de la protéine codée.

Orphanet donne aussi accès à d'autres ressources de référence dans le domaine de la génétique tels que OMIM (Online Mendelian Inheritance In Man) et HGNC (HUGO Gene Nomenclature Committee).

Ainsi, les gènes répertoriés dans Orphanet sont alignés de façon exacte avec les gènes répertoriés dans HGNC et OMIM.

Orphanet réalise également l'alignement manuel entre les maladies rares définies cliniquement et les maladies définies génétiquement par OMIM. Un qualificatif est attribué à cet alignement, permettant à l'utilisateur de savoir si les concepts des deux nomenclatures sont absolument identiques ou simplement avoisinants. Actuellement, 4280 maladies rares répertoriées dans Orphanet sont alignées à 5891 codes OMIM. 3479 de ces maladies sont représentées de façon identique dans les deux bases de données.

Orphanet offre un point d'accès unique à chaque maladie rare pour l'ensemble de la communauté médicale et scientifique via le code ORPHA. Son alignement avec les gènes et les ressources génétiques de référence permet d'accroître l'interopérabilité entre les données cliniques et génétiques, aujourd'hui largement disséminées.

#2795 : Corrélation Génotype - Phénotype dans la Maladie de Rendu-Osler. Analyse des données du réseau français.

**Auteurs :**

Claudia Paez (1), Florent Soubrier (2), Melanie Eyries (2), Gaetan Lesca (3), Alain Kitzis (4), Evelyne Decullier (5), Emmanuel Babin (6), Marie-France Carette (7), Romain Corre (8), Pierre Duffau (9), Brigitte Gilbert-Dussardier (10), Pierre-Yves Hatron (11), Jean-Robert Harle (12), Pierre Kaminsky (13), Pascal Lacombe (14), christian Lavigne (15), Vanessa Leguy (16), Pascal Magro (17), Sophie Riviere (18), Sophie Dupuis-Girod (1)

1. Génétique et centre de Référence pour la Maladie de Rendu-Osler, Hospices Civils de Lyon, Bron, France
2. Laboratoire d'Oncogénétique et Angiogénétique Moléculaire, UMR 956 INSERM, , Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière et Université Pierre et Marie Curie-Paris 6, Paris, France, Paris, France
3. Génétique Moléculaire, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
4. Service de Génétique, Poitiers, Poitiers, France
5. pôle IMER, Lyon, Hospices Civils de Lyon et Université Lyon 1, Lyon, France
6. Service d'ORL, Hôpital Côte de Nacre, Caen, , France
7. Hôpital Tenon, Service de Radiologie, Assistance Publique – Hôpitaux de Paris, Université Curie (Paris VI), Paris, France
8. Service de Pneumologie, , Centre Hospitalier Universitaire, Hôpital Pontchaillou, Rennes, France
9. Service de Médecine Interne,, Hôpital Haut-Lévêque – Centre François Magendie, Pessac, France
10. Service de Génétique Médicale, Centre Hospitalier Universitaire de Poitiers, Poitiers, France
11. Service de Médecine Interne, Hôpital Jeanne de Flandre, Université Lille2, CHRU de Lille, Lille, France
12. Service de Médecine Interne, Centre Hospitalier Universitaire de Marseille, Hôpital de la Timone, , Marseille, France
13. Service de Médecine Interne, Centre Hospitalier Universitaire de Brabois , Vandoeuvre-lès-Nancy, France
14. Hôpital Ambroise Paré, Service de Radiologie, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Université Paris Ile-de-France Ouest, Boulogne, France
15. Service de Médecine Interne, Angers, Centre Hospitalier Universitaire d'Angers, Angers, France
16. Service de Médecine Interne, Centre Hospitalier Universitaire de Dijon, Dijon, France
17. Service de Pneumologie, Centre Hospitalier Régional et Universitaire Bretonneau, Tours, France
18. Service de Médecine Interne A, Montpellier, Centre Hospitalier Universitaire, Hôpital Saint Eloi, , Montpellier, France

**Mots clefs :** Maladie de Rendu-Osler; Maladie orpheline; maladie vasculaire rare; malformation artério-veineuse; épistaxis; télangiectasies; corrélation génotype-phénotype

**Résumé :**

La maladie de Rendu Osler (Hereditary Haemorrhagic Telangiectasia ou HHT) est une maladie orpheline génétique héréditaire. Elle se caractérise par des épistaxis répétées, des télangiectasies cutanées et muqueuses et des malformations artérioveineuses (MAV) au niveau pulmonaire, hépatique, cérébral, médullaire et digestif. Trois gènes mutés sont associés à la maladie à ce jour : *ENG* (Endogline), *ACVRL1* (activin receptor-like kinase-1) et *MADH4* (SMAD family member 4).

**Objectif:** rechercher une corrélation entre le gène muté (*ENG*, *ACVRL1* ou *MADH4*) et le phénotype clinique des patients atteints de la maladie de Rendu-Osler.

**Méthode:** Etude rétrospective des données cliniques et génétiques des patients ayant une maladie de Rendu-Osler et une mutation prouvée, d'après les données de la base spécifique du réseau Rendu-Osler (CIROCO).

**Résultats:** Un total de 2326 dossiers de patients avec une mutation prouvée ont été analysés. Parmi eux, le gène muté était *ACVRL1* (57 %), *ENG* (41.3%) et *MADH4* (1.7%). La fréquence des épistaxis était de 91 % et des télangiectasies de 87% sans différence significative en fonction de la mutation identifiée. Les MAV pulmonaires étaient présentes chez 27.2, 60 et 73.4 % des patients présentant une mutation *ACVRL1*, *MADH4* et *ENG* respectivement. Les abcès cérébraux et AVC ont été observés avec une fréquence supérieure chez les patients portant une mutation *ENG* ( $p < 0.0001$ ). Les MAV hépatiques étaient associées principalement à la présence de la mutation *ACVRL1* et *MADH4* (65.1% et 41.1% respectivement). Toutes les greffes de foie ( $n = 25$ ) ont été réalisées chez des patients atteints de la mutation *ACVRL1*. Une prévalence significativement plus élevée des MAV cérébrales a été observée chez les patients avec des mutations de *ENG* (22.5%) en comparaison aux patients portant une mutation *ACVRL1* (7.5%) ( $p < 0.0001$ ). Aucune différence significative n'a été trouvée pour les MAV digestives en fonction du gène muté.

**Conclusion :** Cette étude réalisée sur une large cohorte confirme les différences connues des complications observées chez les patients avec une maladie de Rendu-Osler pour les MAV pulmonaires et hépatiques. Dans cette série, la fréquence des MAV neurologiques est significativement plus importante chez les patients avec mutation du gène ENG. Toutefois, malgré le nombre important de patients, le type de mutation (tronquante vs non tronquante) n'apparaît pas être un facteur pronostique.

**#2806 : La déficience en enzyme 17 $\beta$ hsd3 dans la population tunisienne: une grande variété de mutations et un effet fondateur.**

**Auteurs :**

Bochra Ben Rhouma (1), Roger Engeli (2), Nedja Mahfoudh (3), christoph Sager (4), Faiza Fakhfakh (1), Alex Odermatt (5), Hassen Kamoun (6), Leila keskes (1), Neila Belguith-Mahfoudh (6)

1. laboratoire de génétique moléculaire Humaine, faculté de médecine de Sfax, Sfax, Tunisie
2. Division of Molecular and Systems Toxicology Department of Pharmaceutical Sciences, University of Base, Switzerland, Bâle , Suisse
3. service d'Immunologie, hôpital Hédi Chaker , Sfax, Tunisie
4. Molecular Modeling, Department of Pharmaceutical Sciences, Pharmacenter,, University of Basel, Basel, Switzerland, Bâle , Suisse
5. Division of Molecular and Systems Toxicology Department of Pharmaceutical Sciences, University of Basel, Basel, Switzerland, Bâle , Suisse
6. service de génétique médicale, hôpital Hédi Chaker , Sfax, Tunisie

**Mots clefs :** 46 XY DSD, 17 $\beta$ HSD3, effet fondateur, gène HSD17B3, anomalies de la différenciation sexuelle masculine

**Résumé :**

La déficience en enzyme 17 $\beta$ HSD3 est une étiologie rare des anomalies de la différenciation sexuelle masculine ou 46, XY DSD. Elle est due à des mutations au niveau du gène *HSD17B3* et se caractérise par une expression phénotypique variable allant du simple hypogonadisme masculin jusqu'au phénotype féminin chez des sujets de caryotype 46, XY. Nos objectifs sont d'une part, la recherche par séquençage des mutations responsables de déficience en 17 $\beta$ HSD3 et de 46, XY DSD chez des patientes Tunisiennes de caryotype 46, XY et la confirmation de leurs effets pathogènes par étude fonctionnelle et d'autre part, la confirmation d'un effet fondateur d'une nouvelle mutation p.C206X identifiée dans la population Tunisienne par génotypage et construction des haplotypes. Pour la première partie, nos résultats ont révélé une nouvelle mutation p.C206X (exon 9) à l'état homozygote chez trois patientes appartenant à 3 familles différentes au niveau du gène *HSD17B3*. L'étude fonctionnelle de la mutation p.C206X a montré la traduction de l'ARNm en protéines et la formation des agrégats protéiques due à un mauvais repliement de la protéine tronquée. Nous avons aussi identifié une nouvelle mutation hétérozygote composite p.C206X et p.G133R (exon 5) chez trois patientes appartenant à deux familles non apparentées ; l'étude fonctionnelle et la modélisation tridimensionnelle de la forme mutée p.G133R a montré une altération du site de fixation du cofacteur NADPH. Une nouvelle mutation hétérozygote composite p.C206X et p.Gln176Pro (exon 8) chez une seule patiente a été aussi identifiée par séquençage. Dans la deuxième partie, le génotypage de trois marqueurs flanquant le gène *HSD17B3* a montré un haplotype commun qui co-ségrége avec la mutation p.C206X témoignant l'existence d'un effet fondateur de cette mutation au sein de la population tunisienne.

En conclusion, la déficience en 17 $\beta$ HSD3 a été confirmée chez 7 patientes par l'identification de trois nouvelles mutations et un effet fondateur pour la mutation p.C206X, ce qui montre que cette étiologie ne peut plus être considérée comme rare dans la population Tunisienne et doit être prise en considération lors du diagnostic moléculaire.

#2842 : Intégration d'une société savante dans une filière de maladies rares : un exemple à suivre?

**Auteurs :**

Lilia Ben Slama (1), Annie Laquerriere (2), Marie Gonzales (3), Tania Attie-Bitach (4)

1. Institut Imagine , Hôpital Necker-Enfants Malades , Paris, France
2. Laboratoire d'anatomie et de cytologie pathologiques, CHR Rouen, Rouen, France
3. Département de Génétique Médicale, Hôpital Armand Trousseau, Paris, France
4. Laboratoire de Génétique , Hôpital Necker-Enfants Malades , Paris, France

**Mots clefs :** Foetopathologie, société savante, maladies rares

**Résumé :**

La SoFFœt (Société Française de FCETopathologie), est une association régie par loi de 1901 fondée le 15 mars 1984, à l'instigation de médecins appartenant à différentes spécialités médicales pour promouvoir l'examen foetoplacentaire (EFP) et améliorer les conditions de réalisation de cet examen. L'EFP est ainsi devenu l'examen de référence permettant d'identifier les causes et/ou le mécanisme des pertes fœtales ou néonatales précoces, dont une part importante est due à des anomalies du développement embryofœtal.

L'importance de l'EFP a conduit à désigner le laboratoire de foetopathologie comme partie prenante des **Centres Pluridisciplinaires de Diagnostic Prénatal** (CPDPN), pour l'agrément desquels la présence d'un médecin « expérimenté en foetopathologie » est indispensable, l'EFP étant une « assurance qualité » de la médecine fœtale au sein d'un CPDPN. Les unités de foetopathologie sont très souvent en lien avec les **Centres de Références de la FeCLAD** pour l'aide au diagnostic et au conseil génétique des maladies rares à révélation anténatale.

C'est donc naturellement que la foetopathologie a intégré la filière AnDDI-Rares, par le biais de la SoFFœt. La filière consolidera les liens de la foetopathologie avec la FECLAD et les CPDPN. Les foetopathologistes participeront au registre BaMaRa mis en place par la banque nationale des maladies rares (BNDMR), outil qui permettra la constitution de cohortes homogènes nationales et renforcera les travaux scientifiques collaboratifs à grande échelle. Un autre objectif est la rédaction d'un guide de bonnes pratiques labellisé par la Haute Autorité de Santé (HAS).

En conclusion, l'intégration de la SoFFœt au sein d'AnDDI-Rares permettra d'améliorer la reconnaissance et la visibilité de la foetopathologie en France. Le recensement et l'identification d'un réseau national de professionnels aidera à une meilleure prise en charge des anomalies du développement embryofœtal sur le territoire, améliorera l'accès au diagnostic, la formation des professionnels et l'information des familles et des professionnels

**#2875 : Face2Gene Academy: Revue d'un nouvel outil en ligne de formation à la Dysmorphologie basé sur la communauté**

**Auteurs :**

Lina Basel Vanagaite (1)

1. a, Schneider Children's Medical Center and Beilinson Hospital, Petah Tikva, Israël

**Mots clefs :** dysmorphologie faciale

**Résumé :**

**Face2Gene Academy : Revue d'un nouvel outil en ligne de formation à la Dysmorphologie basé sur la communauté**

La technologie d'Analyse de dysmorphologie faciale a été mise en œuvre en clinique par le biais de Face2Gene, un outil de recherche et de référence génétique qui facilite la détection des caractéristiques de dysmorphie faciale et des schémas reconnaissables de malformations humaines. Une nouvelle plateforme en ligne qui sert de formation communautaire est présentée ci-après. Le but de cet outil de formation à la dysmorphologie assistée par ordinateur est de former et tester les résidents et les cliniciens pratiquant, spécialisé dans la génétique avec les compétences de la dysmorphologie. Des défis en matière de dysmorphologie sont créés par des experts et partagés avec la communauté. Les types de questions comprennent l'identification du syndrome par des caractéristiques typiques de dysmorphie et par des photos faciales ainsi que l'identification de caractéristiques de dysmorphie dans les photos.

Pour aider à la formation et à l'évaluation, des sources de référence sont disponibles pour les participants, notamment les Bases de Données Médicales de Londres, (LMD) POSSUMweb, OMIM, OrphaNet et des GeneReviews. Ce nouvel outil de formation à la dysmorphologie a été piloté pendant le Cours sur la Dysmorphologie de Manchester en 2015 et lors du 28e Cours en Génétique Médicale, à l'Ecole Européenne de Médecine Génétique en avril-mai dernier. Les participants ont reçu l'outil avec enthousiasme et ont validé la valeur de cet outil de formation. Chaque participant reçoit le score final et la bonne réponse est affichée.

La formation à la Dysmorphologie est un véritable défi. Cet auteur est convaincu que cet outil de formation jouera un rôle clé dans la formation de la prochaine génération de généticiens médicaux.

**#2880 : Variabilité d'expression anté et néonatale du nanisme microcéphalique ostéodysplasique primordial type I (MOPD I) : à partir de 4 nouveaux patients.**

**Auteurs :**

Lucile PINSON (1), Audrey PUTOUX (2), Marie Josée PEREZ (3), Nicole BIGI (3), Patricia BLANCHET (1), Yuri MUSIZZANO (4), Nicolas FRIES (5), Alexandre VASILJEVIC (6), Dominique BOGGIO (7), Patrick EDERY (8), David GENEVIÈVE (1), Christine COUBES (1)

1. Département de Génétique Médicale, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
2. Service de Génétique, HOSPICES CIVILS DE LYON, LYON, France
3. Département de Génétique Médicale, Unité de fœtopathologie, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
4. Département d'Anatomie et Cytologie Pathologiques, Unité de fœtopathologie, Hôpital Gui de Chauliac, Montpellier, France
5. Département de Gynécologie-Obstétrique, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
6. Centre de Pathologie et Neuropathologie Est, Groupement Hospitalier Est, HOSPICES CIVILS DE LYON, Bron, France
7. Service de Génétique, HOSPICES CIVILS DE LYON, Lyon, France
8. Service de Génétique, HOSPICES CIVILS DE LYON, Bron, France

**Mots clefs :** MOPD I, RUN4ATAC, retard de gyration, microcéphalie, prénatal

**Résumé :**

Le nanisme microcéphalique ostéodysplasique primordial type I (MOPD I) ou syndrome de Taybi-Linder (OMIM 210710) est classiquement caractérisé par un retard de croissance intra-utérin et post-natal, une microcéphalie sévère avec dysmorphie faciale, une atteinte des phanères, une dysplasie squelettique une déficience intellectuelle sévère et des anomalies cérébrales. Des anomalies de la gyration de degré variable, une agénésie ou hypoplasie du corps calleux et une hypoplasie des lobes frontaux sont les anomalies les plus fréquemment décrites. Les éléments morphologiques mineurs associent une racine du nez élargie, un proptosis, un front fuyant, une micrognathisme et des anomalies des extrémités. Le pronostic est sévère, avec, le plus souvent, un décès au cours de la première année de la vie.

Ce syndrome très rare se transmet sur un mode autosomique récessif. Il résulte de mutations dans un gène qui code un petit ARN (ARNsn ou small nuclear RNA) U4atac appartenant à l'une des sous unités du spliceosome, complexe qui permet l'épissage de l'ARN pré messenger.

Nous rapportons les données ante et néonatales de 4 nouveaux patients avec syndrome de Taybi-Linder. Nous décrivons 3 fœtus dont des jumeaux dizygotes issus de parents non apparentés et un enfant de parents apparentés décédé à l'âge de 9 mois.

Nous notons de manière constante dans notre petite série, une microcéphalie allant de -3.6 DS à -5DS, des mains de forme particulière avec des doigts effilés, un retard précoce et sévère de la gyration et une agénésie ou hypoplasie du corps calleux. Le retard staturo-pondéral est inconstant, de même que le proptosis, l'hypoplasie cérébelleuse ou la présence d'autres malformations.

Cette variabilité phénotypique, déjà rapportée dans la littérature en période postnatale, peu décrite en période anténatale, rend compte de la difficulté du diagnostic prénatal dans cette pathologie.

En période anténatale, devant l'association d'une microcéphalie avec agénésie ou hypoplasie du corps calleux et anomalie sévère de la gyration/lissencéphalie, avec ou sans proptosis, avec ou sans retard de croissance sévère, nous proposons, lorsque la CGH est normale, l'étude du gène *RUN4ATAC* à la recherche d'un syndrome nanisme microcéphalique ostéodysplasique primordial type I.

**#2910 : Le nanisme MULIBREY comme diagnostic différentiel du syndrome de Silver-Russell avec atteinte cardiaque**

**Auteurs :**

Florence Jobic (1), Guillaume Jedraszak (2), Catherine Vincent-Delorme (3), Gilles Morin (1), Rosalie Cabry (4), Bénédicte Demeer (5), Tania Dery (5), Alexandra Petit (5), Henri Copin (4), Estelle Cadet (2), Jacques Rochette (2), Michèle Mathieu-Dramard (1)

1. Génétique Clinique, CHU Amiens-Picardie, Amiens , France
2. Génétique Moléculaire, CHU Amiens-Picardie, Amiens , France
3. Génétique Clinique, Hôpital Jeanne de Flandre, Lille, France
4. Médecine et Biologie de la Reproduction-Cytogénétique, CHU Amiens-Picardie, Amiens , France
5. Génétique Clinique, CHU Amiens-Picardie, Amiens, France

**Mots clefs :** nanisme MULIBREY, syndrome Silver-Russel, cardiopathie, TRIM37, atteinte peroxysomale

**Résumé :**

Le nanisme MULIBREY est une maladie rare autosomique récessive due à des mutations du gène *TRIM37*. A ce jour, plus de 80% des patients rapportés dans la littérature sont d'origine Finlandaise, en raison de l'existence de deux mutations récurrentes dans cette population, et seulement 20 cas ne sont pas d'origine Finlandaise. Les principales caractéristiques phénotypiques du nanisme MULIBREY sont le retard de croissance pré et post natal, une dysmorphie faciale caractéristique et une atteinte multi-organique, sans retard des acquisitions. Le pronostic de ce syndrome est lié à l'important retard de croissance, au risque de cardiopathie et au risque tumoral.

Nous rapportons 3 nouveaux patients présentant un nanisme MULIBREY confirmé sur le plan moléculaire. Ils présentent tous trois un retard de croissance sévère, une dysmorphie faciale caractéristique, une voix haut-perchée et un développement psychomoteur normal. La patiente la plus âgée a développé une péricardite constrictive évolutive ayant nécessité une prise en charge chirurgicale, soulignant l'importance de la surveillance cardiaque chez ces patients. Il est important de penser à ce syndrome chez un patient présentant un phénotype de syndrome de Silver-Russell sans confirmation moléculaire, en raison de l'existence de signes cliniques communs à ces deux syndromes, d'autant plus que la surveillance à instaurer, notamment cardiaque, est différente. Deux des trois mutations mises en évidence chez nos patients sont des réarrangements intra-géniques ; de plus, deux de ces mutations n'ont jamais été rapportées à ce jour. Ces données confirment l'importance de réaliser un séquençage complet et une recherche de réarrangement intra-génique du gène *TRIM37* en cas de suspicion de syndrome de MULIBREY.

**Auteurs :**

Laurence FAIVRE (1), Elodie GAUTIER (1), Yannis DUFFOURD (1), Alice MASUREL (1), Daniel AMSALLEM (2), Patrick CALLIER (3), Christine BINQUET (4), Sophie BEJEAN (5), Aurore PELISSIER (6), Christine PEYRON (6), Julien THEVENON (1), Paul KUENTZ (1), Pierre VABRES (7), Frédéric HUET (1), Elodie CRETIN (8), Christel THAUVIN (1)

1. FHU TRANSLAD - Hôpital d'Enfants, CHU Dijon, Dijon, France
2. FHU TRANSLAD - Service de pédiatrie, CHU Besançon, Besançon, France
3. FHU TRANSLAD ; Laboratoire de cytogénétique, CHU Dijon, Dijon, France
4. FHU TRANSLAD; INSERM CIC 1432 (CIC-EC), CHU Dijon, Dijon, France
5. FHU TRANSLAD; LEDi, Université de Bourgogne, Dijon, France
6. LEDi, Université de Bourgogne, Dijon, France
7. FHU TRANSLAD; Service de Dermatologie, CHU Dijon, Dijon, France
8. FHU TRANSLAD ; EEBFC, CHU Besançon, Besançon, France

**Résumé :**

Les CHU de Besançon et de Dijon et les Universités de Bourgogne et de Franche-Comté ont lancé en 2012, comme d'autres CHU en France, un appel à projet Fédérations Hospitalo-Universitaires (FHU). Les FHU ont vocation à conférer une visibilité sur les trois dimensions de la qualité des soins, de l'enseignement et de la recherche, afin de renforcer l'attractivité que peut avoir un site hospitalo-universitaire. Un jury international a classé n°1 le projet TRANSLAD (Médecine TRANSLationnelle et Anomalies du Développement). Le regroupement d'expertises complémentaires, comprenant des équipes de génétique et leurs correspondants spécialistes, mais aussi des chercheurs du domaine des sciences humaines et sociales, développe un projet scientifique d'envergure nationale et internationale et dont l'objectif est de rapprocher soin et recherche pour aboutir à une médecine translationnelle et personnalisée.

La FHU TRANSLAD s'articule autour de 5 axes : 1) Faire progresser la prise en charge pluridisciplinaire des patients et les essais thérapeutiques, 2) Améliorer le diagnostic génétique, 3) Renforcer la formation en génétique, adaptée aux nouvelles technologies de séquençage, 4) Favoriser une meilleure organisation des soins, en tenant compte des enjeux éthiques et médico-économiques induits par l'arrivée des nouvelles technologies et 5) Faire progresser la recherche clinique, moléculaire et physiopathologique.

Au cours de ses 2 années d'existence, la FHU TRANSLAD a pu mettre en place de nombreuses actions pour répondre aux objectifs qu'elle s'est fixée. On retiendra le développement de l'offre de soins (création d'un centre d'évaluation de la déficience intellectuelle Defl Bourgogne, augmentation de l'offre de consultations délocalisées, de transition enfant-adulte, mise en place de nouvelles initiatives d'accompagnement) et la coordination d'un essai thérapeutique en cours pour l'axe 1 ; la mise en place du séquençage haut débit d'exome (SHD-E) en diagnostic et la création d'une spin-off de service pour permettre d'accès au SHD-E pour les autres services de Génétique en France (Orphanomix) pour l'axe 2 ; la création de nouveaux enseignements, et en particulier un DU de bioinformatique, la création de supports de communication, l'organisation de séminaires nationaux et internationaux pour l'axe 3; une étude médico-économique pilote sur l'utilisation du SHD d'exome, un projet Sciences Humaines et Sociales SEQUAPRE financé par la Fondation Maladies Rares et l'animation de discussions éthiques sur la thématique pour l'axe 4 ; 68 publications et 5 communications à des congrès internationaux pour l'axe 5.

La FHU TRANSLAD, de part son dynamisme organisationnel, la cohérence de ses projets, la cohésion de l'ensemble de son équipe dans tous les domaines doit poursuivre son travail pour mettre au service des patients et leurs familles les nouvelles technologies de SHD afin d'ouvrir de nouvelles pistes diagnostiques et thérapeutiques des maladies rares.

**#3072 : DIAGNOSTIC DES MALADIES RARES : Un film pour comprendre l'apport du séquençage de nouvelle génération**

**Auteurs :**

Elodie GAUTIER (1), Julien THEVENON (1), Jean-Baptiste RIVIERE (1), Christel THAUVIN (1), Yannis DUFFOURD (1), Laurent DEMOUGEOT (2), Evan FOL (3), TRANSLAD FHU (1), Laurence FAIVRE (1)

1. FHU TRANSLAD - Hôpital d'Enfants, CHU Dijon, Dijon, France
2. Filière AnDDI-Rares, CHU Dijon, Dijon, France
3. GAD - EA 4271, CHU Dijon, Dijon, France

**Résumé :**

Le besoin d'un film pour faire comprendre les nouvelles technologies de séquençage en génétique, et en particulier le séquençage haut débit d'exome, est né de la difficulté des médecins et des enseignants dans le champ de la génétique à les expliquer facilement sans support dédié, alors que ces technologies sont en phase de révolutionner le diagnostic génétique des maladies rares.

En effet, il est nécessaire de connaître des bases concernant la constitution du génome, et sa complexité, en particulier le nombre élevé de variants interindividuels, qui entraîne la complexité de son analyse (20 000 variations dans la partie codante du génome nommée exome). Dans le but de faciliter cette compréhension, un personnage va progressivement entrer dans une cellule, aller des chromosomes aux gènes, puis expliquer les variations génétiques. Le lecteur comprend progressivement que si l'une des milliers de variations peut expliquer à elle seule une maladie rare, d'autres peuvent n'avoir aucune conséquence, ou même conférer un effet bénéfique. On comprend également que, même si les médias transmettent que l'ensemble du génome est décrypté, on ignore encore la fonction de la majorité de nos gènes, ce qui explique les limites du diagnostic des maladies rares. Le personnage nous explique ainsi que les résultats d'une telle analyse peuvent être positifs lorsque la cause de la pathologie est identifiée, négatifs lorsqu'aucune variation candidate a été identifiée, ou non concluant, lorsqu'il existe une variation candidate mais que les données scientifiques sont insuffisantes pour conclure. En fonction des avancées scientifiques, une nouvelle analyse des données pourraient permettre de conclure. Il nous explique également qu'il est possible de trouver des résultats sans lien avec la pathologie qui était le motif de l'analyse. Dans le cas où il pourrait avoir des implications pour la santé de la personne ou d'autres membres de la famille, le patient pourra choisir en amont s'il souhaite en être informé ou non. Nous voyons également des praticiens discuter entre eux des résultats, symbolisant le travail clinico-biologique indispensable à l'interprétation des données. Le film se termine par une consultation auprès d'un généticien pour rendu des résultats.

Ce film a été réalisé à l'attention des étudiants en médecine devant se familiariser avec ses nouvelles technologies, et à l'attention des familles auxquelles cette technologie a été proposée, et qui souhaiteraient avoir plus d'explication.

Ce film a été financé par l'Université de Bourgogne - UFR des Sciences de Santé, et co-produit par la Fédération Hospitalo-Universitaire TRANSLAD et la Filière de Santé Anomalies du Développement et Déficience Intellectuelle de causes Rares (AnDDI-Rares), en collaboration avec Eduter à Dijon. Ce film est téléchargeable à partir du lien suivant : <http://www.anddi-rares.org>.

## GÉNÉTIQUE CLINIQUE, DÉVELOPPEMENT, FOETOPATHOLOGIE

**#3086 : Développement d'un modèle d'étude *in vivo* d'expression des gènes de l'angiogenèse au niveau des berges des fentes labiales.**

### Auteurs :

Audrey LANNOY (1), Marie-Laurence POLI-MEROL (2), Claire TOURNOIS (3), Pascale CORNILLET-LEFEBVRE (3), Annie DAVID (3), Gael POITEVIN (4), Emilie LANDAIS (1), Coralie BARBE (5), Philippe NGUYEN (3), Martine DOCO-FENZY (1), Caroline FRANCOIS (6)

1. Service de Génétique, Hôpital Maison Blanche - CHU REIMS, REIMS, France
2. Service de Chirurgie pédiatrique, American Memorial Hospital - CHU Reims, REIMS, France
3. Service d'hématologie, Hôpital Robert Debré - CHU Reims, REIMS, France
4. EA 3801 Laboratoire Université Champagne Ardenne SFR CAP santé Reims-Amiens , CHU REIMS , REIMS, France
5. Département d'Aide à la recherche clinique, Hôpital Robert Debré - CHU Reims, REIMS, France
6. Service de chirurgie plastique reconstructrice et esthétique, Hôpital Maison Blanche - CHU REIMS, REIMS, France

**Mots clefs :** Fente labiale, expression, angiogenèse, gène, ARN, qPCR, génétique

### Résumé :

Le défaut de fusion des bourgeons faciaux peut être la conséquence d'une anomalie de développement tissulaire et/ou d'apoptose. Notre hypothèse de travail était que l'anomalie de développement tissulaire pouvait être due à un défaut d'angiogenèse d'origine génétique.

L'objectif de cette étude était de développer un modèle d'étude *in vivo* d'expression des gènes de l'angiogenèse au niveau de berges des fentes labiales (FL) ou labio-palatines (FLP).

Au plan chirurgical, toutes les techniques primaires de reconstruction des FL visent à ramener du tissu de la berge externe (BE) vers la berge interne (BI) dite "hypoplasique". Nous souhaitons rechercher une différence significative d'expression des gènes de l'angiogenèse entre BE et BI. Sur un plan pratique et éthique les prélèvements *in situ* chez l'embryon ne semblaient pas réalisables. Nous avons choisi, au détriment du modèle animal, un prélèvement post natal, solution la moins agressive et délétère pour l'enfant, au risque que les variations d'expression aient disparues si les gènes d'intérêt sont prioritairement exprimés pendant l'embryogenèse.

Dans le cadre d'une étude prospective monocentrique (*AOL protocole de recherche hors médicament 2010*) ont été inclus 7 patients non syndromiques (3 FL (2 Dt, 1 Gch), 4 FLP (1 Bilat, 2 Dt, 1 Gch) (4G, 3F), avec analyse ACPA négative, opérés d'une chirurgie primaire de FL, ainsi que 4 contrôles (culture de fibroblastes issus de peau saine). L'âge moyen au moment de la chirurgie était de 44 jours. Les BE et BI des FL ont été étudiés en histologie (HES) et en qPCR pour l'analyse d'expression de 22 gènes d'intérêt impliqués dans les FL et l'angiogenèse (+2 gènes de ménage).

L'analyse en qPCR retrouvait de manière significative ( $p < 0,05$ ) une sur-expression de 8 gènes en BI et 5 en BE et une sous-expression de 9 gènes en BI et 10 en BE. On ne retrouvait pas de différence significative d'expression des gènes de l'angiogenèse entre la BI et la BE.

En conclusion, nous avons fait l'hypothèse qu'une atteinte constitutionnelle de ces gènes "polyvalents" de l'angiogenèse serait une anomalie létale. C'est dans ce cadre que nous avons étudié les variations d'expression de l'ARN de ces gènes au plus près de l'anomalie, donc au niveau des berges. Cette étude montre la faisabilité de l'analyse d'expression des gènes de l'angiogenèse réalisée *in vivo* après prélèvement *in situ* au niveau des berges des FL. Malgré la taille et la rareté des échantillons rendant la mise au point de la technique délicate, le modèle est dorénavant utilisable et reproductible.

L'absence de différence significative d'expression des gènes de l'angiogenèse entre les BE et BI dans notre étude peut-être due soit à l'existence d'anomalie d'expression des gènes de l'angiogenèse de manière symétrique, soit à l'absence de l'implication de l'angiogenèse au moment de l'étude. Ce dernier point n'excluant pas la possibilité d'une anomalie durant l'embryogenèse. La variable temps est donc une piste de recherche importante.

**#3101 : GenoDiag : Logiciel pour l'aide à l'analyse, à l'interprétation et à l'organisation des données de séquençage pour le diagnostic génétique**

**Auteurs :**

Pierre de la Grange (1), Marc Rajaud (1), Frédéric Lemoine (1), Olivier Ariste (1), Shakti Rielland (1), Yufei Luo (1)

1. R&D, GenoDiag, Paris, France

**Mots clefs :** NGS, logiciel, diagnostic

**Résumé :**

L'augmentation régulière du nombre de tests à réaliser pour chaque patient conduit les plateformes de diagnostique publiques et privées à adopter de nouvelles technologies permettant de multiplexer les analyses. En particulier, l'implémentation du séquençage à haut débit contribue à accroître les capacités d'analyse des laboratoires en permettant de réduire le délai de rendu des résultats tout en augmentant le nombre de gènes criblés pour un même patient.

L'utilisation du séquençage à haut débit dans le cadre de l'activité diagnostique impose, dans un contexte d'évolution technologique rapide, d'assurer une qualité optimale des examens. Elle entraîne des réorganisations au sein des laboratoires et rend indispensable l'acquisition de nouvelles compétences pour la préparation des échantillons et l'analyse des résultats. En particulier, le recours à la bioinformatique est indispensable pour l'analyse et la gestion des données issues du séquençage à haut débit.

GenoDiag propose un logiciel d'aide à l'analyse, à la visualisation, à l'interprétation et à l'organisation des résultats des tests génétiques réalisés par les laboratoires publics et privés. Entre autres, le logiciel de GenoDiag comprend les fonctionnalités suivantes :

- Lancement des analyses à partir des fichiers fastq ;
- Interface de suivi des analyses ;
- Contrôle qualité détaillé ;
- Détection et annotation des variants génétiques ;
- Détection des CNV à l'échelle de l'exon ;
- Détail des méthodes ;
- Intégration des annotations spécifique de l'utilisateur (pré-interprétation des variants, informations sur la famille, le sexe...) ;
- Interface de suivi de la validation des résultats (validations techniques et biologiques) ;
- Résultats par patient.

GenoDiag est une solution bioinformatique directement utilisable par les praticiens, sur leur serveur, afin de mieux exploiter les dernières techniques de séquençage à haut débit, et ainsi de prendre en charge de manière plus personnalisée le traitement des patients. Utilisée en routine et dans les premières étapes du diagnostic, cette solution permettra aux patients d'accéder à un traitement plus précoce et plus adapté, quitte à confirmer le diagnostic avec des examens complémentaires ciblés.

**#3109 : L'étude du modèle murin invalidé pour *adamtsl2* apporte une nouvelle compréhension du retard de croissance observée dans la dysplasie géleophysique.**

**Auteurs :**

Laure Delhon (1), Clémentine Mahaut (1), Emilie Gaudas (1), Kevin Piquand (1), Valérie Cormier-Daire (2), Carine Le Goff (1)

1. INSERM UMR1163, Laboratoire bases moléculaires et physiopathologiques des ostéochondrodysplasies, Institut IMAGINE, Paris, France

2. Service de Génétique et INSERM UMR1163, Laboratoire bases moléculaires et physiopathologiques des ostéochondrodysplasies, Institut IMAGINE, Paris, France

**Mots clefs :** dysplasie geleophysique, matrice extracellulaire, ADAMTSL2, ossification endochrondale, TGF- $\beta$

**Résumé :**

La dysplasie géleophysique (DG) est caractérisée par un retard statural, des extrémités courtes, une raideur articulaire, une peau épaisse, une dysmorphie faciale, une atteinte broncho-pulmonaire et une infiltration valvulaire cardiaque qui conduit souvent à un décès précoce. Chez les patients DG, nous avons identifié des mutations dans le gène ADAMTSL2 (A Disintegrin And Metalloproteinase with Thrombospondin motif like 2) pour la forme autosomique récessive. ADAMTSL2 est une glycoprotéine de la matrice extracellulaire avec une fonction inconnue. Nous avons identifié deux de ses partenaires, Latent-Transforming growth factor beta-Binding Protein 1 (LTBP1) et fibrilline 1 (FBN1), des glycoprotéines directement impliquées dans le stockage de TGF $\beta$ . Dans les fibroblastes de patients DG, nous avons observé une désorganisation du réseau microfibrillaire et une suractivation de la voie de signalisation de TGF $\beta$ . Afin de comprendre la fonction d'ADAMTSL2, nous avons généré un modèle murin knock-out, *Adamtsl2* KO. L'analyse phénotypique de ces souris montre un retard statural, des os longs courts, des extrémités courtes et un épaississement de la peau. Dans les plaques de croissance des os longs des souris mutantes, nous avons observé une désorganisation des colonnes chondrocytaires associée à une diminution de l'expression du collagène X, marqueur de la différenciation des chondrocytes. L'analyse de la matrice extracellulaire des plaques de croissance a révélé une désorganisation structurale importante. Une diminution de la fibrilline-1 a été observée ainsi qu'une augmentation de l'activation de la voie de signalisation TGF $\beta$  au niveau de la plaque de croissance des souris mutantes. Ces résultats suggèrent que la protéine ADAMTSL2 est impliquée dans la structure du réseau microfibrillaire, lieu de stockage du TGF $\beta$  et démontrent un rôle majeur d'ADAMTSL2 dans la régulation de la chondrogenèse.

**#3120 : Anomalies génétiques et spectre neurodéveloppemental de l'encéphalopathie liée au gène SYNGAP1**

**Auteurs :**

Cyril Mignot (1), Celina von Stülpnagel (2), Caroline Nava (1), Dorothée Ville (3), Damien Sanlaville (4), Gaétan Lesca (5), Agnès Rastetter (6), Benoit Gachet (6), Yannick Marie (6), G. Christoph Korenke (7), Ingo Borggraefe (8), Dorota Hoffmann-Zacharska (9), Elżbieta Szczepanik (10), Mariola Rudzka-Dybała (10), Uluç Yiş (11), Hande Çağlayan (12), Arnaud Isapof (13), Isabelle Marey (1), Eleni Panagiotakaki (14), Christian Korff (15), Eva Rossier (16), Angelika Riess (17), Stefanie Beck-Woedl (17), Anita Rauch (18), Christiane Zweier (19), Juliane Hoyer (20), André Reis (21), Mikhail Mironov (22), Mariya Bobylova (22), Konstantin Mukhin (22), Laura Hernandez-Hernandez (23), Bridget Maher (24), Sanjay Sisodiya (25), Sarah Wechuysen (26), Candace T. Myers (27), Heather Mefford (27), Konstanze Hörtnagel (28), Saskia Biskup (28), Johannes Lemke (29), Delphine Héron (1), Gerhard Kluger (30), Christel Depienne (1)

1. Département de Génétique et Centre de Référence Déficiences Intellectuelles de Causes Rares, Groupe Hospitalier Pitié Salpêtrière, Paris, France
2. Epilepsy Center for Children and Adolescents, Hospital for Neuropediatrics and Neurological Rehabilitation, Votgareuth, Allemagne
3. Service de Neurologie Pédiatrique, Hôpital Femme Mère Enfant, CHU de Lyon, Bron, France
4. Service de Génétique, Groupement Hospitalier Est, Hospices Civils de Lyon, Bron, France
5. Service de Génétique, Hôpital Femme Mère Enfant, CHU de Lyon, Lyon, France
6. ICM, F-75013, Sorbonne Universités, UPMC Univ Paris 06, INSERM UMR S 1127, CNRS UMR 7225, Paris, France
7. Klinik für Neuropädiatrie u. angeborene Stoffwechselerkrankungen, Klinikum Oldenburg, Zentrum für Kinder- und Jugendmedizin (Elisabeth Kinderkrankenhaus), Oldenburg, Allemagne
8. Department of Pediatric Neurology and Developmental Medicine and Epilepsy Center, University of Munich, Munich, Allemagne
9. Department of Medical Genetics, Institute of Mother and Child, Varsovie, Pologne
10. Clinic of Neurology of Child and Adolescents, Institute of Mother and Child, Varsovie, Pologne
11. Department of Pediatrics, Division of Child Neurology, School of Medicine, Dokuz Eylül University, Izmir, Turquie
12. Department of Molecular Biology and Genetics, Boğaziçi University, Istamboul, Turquie
13. Service de Neuropédiatrie, APHP, Hôpital Armand Trousseau, Paris, France
14. Epilepsy, Sleep and Pediatric Neurophysiology Department (ESEFNP), University Hospitals of Lyon (HCL), France
15. Département de l'Enfant et de l'Adolescent, Neuropédiatrie, Hôpitaux Universitaires de Genève, Genève, Suisse
16. Institute of Human Genetics, University of Tuebingen, Tuebingen, Allemagne
17. Institute of Medical Genetics and Applied Genomics, University of Tübingen, Tübingen, Allemagne
18. Institute of Medical Genetics, University of Zurich, Schwerzenbach, Suisse
19. Institute of Human Genetics, Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg, Erlangen, Allemagne
20. Institute of Human Genetics, Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg, France
21. Institute of Medical Genetics, Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg, Erlangen, Allemagne
22. Svt. Luka's Institute of Child Neurology and Epilepsy, Svt. Luka's Institute of Child Neurology and Epilepsy, Moscou, Russie
23. Department of Clinical and Experimental Epilepsy, Institute of Neurology, University College London, Londres, Royaume Uni
24. Department of Clinical and Experimental Epilepsy, Institute of Neurology, University College London, Londres, Royaume Uni
25. Department of Molecular Biology and Genetics, Institute of Neurology, University College London, Londres, Royaume Uni
26. Neurogenetics Group, Department of Molecular Genetics, VIB, Anvers, Belgique
27. Division of Genetic Medicine, Department of Pediatrics, University of Washington, Seattle, Etats-Unis
28. CeGaT GmbH, CeGaT GmbH, Tübingen, Allemagne
29. Institut für Humangenetik, Universitätsklinikum Leipzig, Leipzig, Allemagne
30. Epilepsy Center for Children and Adolescents, Hospital for Neuropediatrics and Neurological Rehabilitation, Vogtareuth, Allemagne

**Mots clefs :** déficience intellectuelle, épilepsie

## Résumé :

Le gène SYNGAP1 devient l'un des plus fréquemment muté chez les patients atteints de déficience intellectuelle. Notre but est de décrire le phénotype neurodéveloppemental des patients atteints de l'encéphalopathie liée à SYNGAP1 et d'étudier la corrélation phénotype/génotype.

Nous avons étudié 251 patients avec un trouble neurodéveloppemental par séquençage d'exome ou par criblage du gène SYNGAP1. D'autres patients atteints de cette maladie diagnostiqués grâce à différentes méthodes ont été ajoutés à notre série locale. Les données développementales et neurologiques ont été étudiés à partir du dossier de ces patients. Celles de la littérature sont également prises en compte.

Nous décrivons au total 17 patients porteurs de 12 différentes nouvelles mutations perte de fonction du gène SYNGAP1. L'encéphalopathie liée à SYNGAP1 se manifestait d'abord par un retard des acquisitions suivi d'une déficience intellectuelle associée à des signes autistiques dans la moitié des cas. Les signes neurologiques les plus fréquents étaient l'hypotonie et un trouble de la marche mal systématisé. Tous les patients sauf un ont fait plusieurs crises d'épilepsie caractérisées par des chutes du corps ou de la tête dues à des accès atoniques ou des myoclonies, des absences, parfois des absences myocloniques et/ou des myoclonies des paupières. Chez sept patients les EEG suggéraient une épilepsie réflexe. L'épilepsie était pharmaco-résistante dans la moitié des cas. Sa sévérité n'a pas pu être corrélée à la présence de signes autistiques ou à celle de la déficience intellectuelle.

Les mutations, réparties dans le gène, étaient retrouvées dans certains exons et épargnaient les exons des extrémités 3' et 5' du gène. L'épilepsie des patients avec des mutations dans les exons 4-5 semblait plus pharmaco-sensible que celle des patients avec des mutations dans les exons 8-16.

L'encéphalopathie liée à SYNGAP1 est caractérisée par un trouble précoce du développement précédant l'apparition d'une épilepsie identifiable car faite de crises généralisées très peu cloniques et avec une photosensibilité notable.

**#3123 : Mutations du gène NAA10 chez les filles : spectre clinique et mutationnel.**

**Auteurs :**

Chloé SAUNIER (1), Christel THAUVIN (2), Laurence FAIVRE (2), Julien THEVENON (2), Alice MASUREL (2), Christiane ZWEIER (3), Thomas ARNESEN (4), Andre REIS (3), Bertrand ISIDOR (5), Bruno LEHEUP (6), Amélie PITON (7), Benedicte GERARD (8), Stove Svein (9), Bernt POPP (10), Jean-Baptiste RIVIERE (2), Yannis DUFFOURD (2), Melissa WASSERSTEIN (11), Grazia Maria MANCINI (12), Nicholas AH MEW (13)

1. Pédiatrie, CHU Dijon, DIJON, France
2. Génétique, CHU Dijon, DIJON, France
3. Institute of Human Genetics, Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg (FAU),, Erlangen, Allemagne
4. Department of Surgery, Haukeland University Hospital, Haukeland, Norvège
5. Génétique, CHU Nantes, Nantes, France
6. Génétique, CHU Nancy, Nancy, France
7. Génétique, CHU Strasbourg, Strasbourg, France
8. Génétique, CHU Strasbourg, Strasbourg, France
9. Département de biologie moléculaire, Université de Bergen, Bergen, Norvège
10. Institute of Human Genetics, Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg (FAU),, Erlangen, France
11. Génétique, Icahn School of Medicine at Mount Sinai, New York City, Etats-Unis
12. Génétique, Sophia's Children Hospital, Rotherdam, Pays-Bas
13. Génétique, Children's national health system, Washington, Etats-Unis

**Mots clefs :** NAA10, lié à l'X, mutations de novo, retard intellectuel, femmes

**Résumé :**

Le gène *NAA10* code pour la sous-unité catalytique de la protéine N-alpha-acétyl-transférase NatA. Des mutations ont été reportées dans deux maladies distinctes de transmission récessive liée à l'X, le syndrome d'Ogden et la microphthalmie de Lenz. De plus, deux mutations faux-sens sporadiques ont été récemment publiées chez un garçon et une fille présentant une déficience intellectuelle sévère, mais un phénotype non spécifique par ailleurs. Nous avons identifié des mutations du gène *NAA10* chez 7 nouvelles filles : 3 nouvelles mutations faux-sens *de novo* chez 6 filles et 1 cas familial chez une autre fille et chez son frère, plus sévèrement touché, secondaire à un mosaïcisme germlinal maternel. Le phénotype commun à toutes ces filles inclut une déficience intellectuelle sévère et un retard de croissance post-natal avec une microcéphalie sévère. Trois des patientes présentent également des anomalies de la conduction cardiaque. Les dosages enzymatiques *in vitro* pour la mutation récurrente

p.(Pro83Cys) et pour les mutations uniques p.(Phe128Leu) et p.(Phe128Ile), ont révélé une activité catalytique réduite. L'inactivation de l'X est aléatoire chez quatre des cinq patientes avec une mutation *de novo*. En conclusion, des mutations faux-sens du gène *NAA10* chez les filles peuvent entraîner une déficience intellectuelle sévère ainsi qu'un retard de croissance post-natal avec une microcéphalie sévère. Cette étude permet d'étendre le spectre clinique des mutations de *NAA10* liées à l'X associé à un déficit en N-terminal-acétyltransférase. Notamment, l'observation des anomalies de la conduction cardiaque pourrait avoir des conséquences cliniques importantes pour les patientes, nécessitant un suivi cardiologique adapté. Nos résultats suggèrent également que, chez les filles, les mutations *de novo* dans des gènes prétendument récessifs liés à l'X pourraient être plus fréquentes que prévu et impliquées dans la déficience intellectuelle.

#3133 : Syndrome de Wiedemann-Steiner atypique chez des patients porteurs de mutations faux-sens de  
KMT2A

**Auteurs :**

Irina GIURGEA (1), Anne DIEUX (2), Alexandra AFENJAR (3), Marie-Christine NOUGUES (4), Jamal GHOUIMID (2), Audrey BRIAND-SULEAU (5), Thierry BIENVENU (5)

1. U.F. de Génétique moléculaire, Hôpital Armand Trousseau, Paris, France
2. Service de génétique clinique, CHRU de Lille - Hôpital Jeanne de Flandre, Lille, France
3. Service de génétique clinique, Hôpital Armand Trousseau, Paris, France
4. Service de Neuropédiatrie, Hôpital Armand Trousseau, Paris, France
5. Service de Biochimie et Génétique Moléculaire, Hôpital Cochin, Paris, France

**Mots clefs :** Syndrome de Wiedemann-Steiner, KMT2A, déficience intellectuelle, traits autistiques, troubles du sommeil

**Résumé :**

Le syndrome de Wiedemann-Steiner (WSS) est une maladie de transmission autosomique dominante associant une dysmorphie faciale (hypertélorisme, sourcils épais, fentes palpébrales étroites), un retard du développement psychomoteur et de croissance pré- et post-natal et une hypertrichose. WSS est causée par des mutations hétérozygotes, *de novo*, du gène *KMT2A* (aussi dénommé *MLL1*). *KMT2A* est un facteur multifonctionnel. Il intervient dans la régulation épigénétique de la chromatine à travers la méthylation de la lysine 4 de l'histone 3 (du nucléosome), mais aussi via sa liaison à des îlots CpG non-méthylés de l'ADN. *KMT2A* interagit ainsi avec plusieurs centaines de promoteurs et/ou de régions régulatrices, d'une manière contexte-dépendante et dynamique, durant le cycle cellulaire et le développement.

Nous avons identifié par séquençage de nouvelle génération (exome et panel ciblé) deux nouvelles mutations faux-sens de *KMT2A* survenues *de novo* chez deux patients non apparentés présentant un retard psychomoteur sévère et des traits autistiques. La mutation c.3460C > T, p.(Arg1154Trp) est localisée dans un domaine doigt de zinc et la mutation c.8558T > G, p.(Met2853Arg) dans le domaine de transactivation de *KMT2A*. Les deux mutations affectent des acides aminés très conservés à travers les espèces. Les patients âgés de 8 et 11 ans, ont une dysmorphie faciale discrète et une hypertrichose modérée ou minime, passées inaperçue initialement. Pour un d'entre eux, la croissance staturo-pondérale et le périmètre crânien étaient normaux. Les deux enfants présentent un retard de la marche, des troubles importants du langage (dyspraxie bucco-faciale invalidante / absence de langage), une hyperactivité, des stéréotypies, un reflux gastro-oesophagien, des difficultés alimentaires et une encoprésie. Un patient présente des troubles du sommeil et l'autre une hyperventilation et une épilepsie. A ce jour, seulement une dizaine de patients WSS porteurs de mutations de *KMT2A* ont été décrits et il s'agit essentiellement de mutations non-sens ou entraînant un décalage du cadre de lecture associées probablement à un mécanisme d'haploinsuffisance. Nous rapportons ici deux patients porteurs de mutations faux-sens *de novo* dont le phénotype est atypique avec au premier plan une déficience intellectuelle et des traits autistiques. Un des patients n'a notamment pas de retard de croissance pré- et post-natal, considéré comme l'un des signes cardinaux du WSS. Des études fonctionnelles *in vitro* permettront de déterminer l'impact de ces mutations sur la distribution subcellulaire de la protéine et sur la transactivation de HoxA9, une des principales cibles transcriptionnelles de *KMT2A*. Ces études devraient permettre d'établir le caractère délétère de ces mutations et d'améliorer nos connaissances sur la fonction de *KMT2A* dans ce contexte.

**#3141 : Séquençage d'exomes chez des patients atteints de déficience intellectuelle et sans mutations identifiées après séquençage ciblé de centaines de gènes candidats**

**Auteurs :**

Francesca Mattioli (1), Elise Schaefer (2), Bertrand Isidor (3), Jean-Louis Mandel (4), Amelie Piton (4)

1. Department of Translational Medicine and Neurogenetics, IGBMC, Illkirch, France
2. Service de Génétique Médicale, Institut de Génétique Médicale d'Alsace, Strasbourg, France , , France
3. Service de Génétique Médicale, CHU de Nantes, Nantes, France, , France
4. Department of Translational Medicine and Neurogenetics, IGBMC, Illkirch , , France

**Résumé :**

Intellectual disability (ID) is a common neurodevelopmental disorder that has a relative high incidence in the population (1-2%). The genetic causes of ID are characterized by an extreme heterogeneity and, thanks also to the increasing use of NGS technology, many genes have been associated to several monogenic forms.

A targeted strategy exon sequencing (TS) of 220-275 genes known to be involved in ID was performed on 248 patients, yielding a high diagnostic efficiency (~25%) (Redin et al. 2014; unpublished results). However, many patients remained without a molecular diagnosis. For these cases, a trio whole exome sequencing (WES) has been performed, increasing the chance to identify new variants in genes not already associated to ID.

On an initial cohort of 15 cases, 2 mutations appear to be pathogenic. The first variant is a de novo heterozygote nonsense change in *PURA*, in which several mutations have been recently reported in patients affected by ID, hypotonia and epilepsy (Lalani et al. 2014; Hunt et al. 2014). Interestingly, a truncated variation in *SHROOM4*, a gene supposed to be involved in ID but recently questioned (Piton et al., 2013), was previously identified by TS in this patient, but the cosegregation analysis ruled out its implication (Redin et al., 2014). The identification of another genetic cause, highly consistent with the patient phenotype, definitively ruled out the implication of this truncating mutation in *SHROOM4*.

The other candidate mutation is an inherited frameshift identified in a family with a suspected autosomal dominant form of syndromic ID with ptosis. This truncating variant occurs in *BRPF1*, a gene not yet been implicated in ID. This gene encodes a protein involved in the activation of three histone acetyltransferases; two of them, *MOZ/MYST3/KAT6A* and *MORF/MYST4/KAT6B*, have been found mutated in patients with syndromic ID (Kraft et al. 2011; Arboleda et al. 2015; Tham et al. 2015). Moreover, the forebrain-specific inactivation of the mouse *brpf1* gene has been shown to cause severe growth retardation and aberrant behaviors (You et al. 2015).

Functional consequences of *BRPF1* truncation will be analyzed on patient's fibroblasts and in CRISPR/Cas9 modified neuroblastoma by studying the effects on histone modifications and on gene expression regulation. To better understand how *BRPF1* can lead to ID, other functional studies such as identification of *BRPF1* target DNA or proteic interactors, will be performed.

This work wants also to evaluate WES as a second intention strategy in diagnosis. As a preliminary result, in only 2 out of 15 patients a potential pathogenic mutation is identified, slightly increasing the general diagnosis efficiency obtained by TS. However, the absence of pathogenic mutation identified by WES in the 13 remaining patients could be explained by various reasons: a pathogenic mutation located in poorly covered exonic region or in intronic/intragenic regions, a genetic scenario more complex than monogenic inheritance, or even a non genetic origin.

#3160 : Implication du gène LRP5 dans l'ostéoporose idiopathique de l'adulte

**Auteurs :**

Corinne COLLET (1), Agnès OSTERTAG (2), Manon RICQUEBOURG (3), Marine DELECOURT (4), Giulia TUEUR (4), Sophie LEANDRE (4), Martine LENNE (4), Thomas FUNCK-BRENTANO (5), Philippe ORCEL (6), de VERNEJOUL Marie-Christine (7), Jean-Louis LAPLANCHE (8), Martine COHEN-SOLAL (6)

1. Service de Biochimie et de Biologie Moléculaire, Inserm 1132, Hôpital Lariboisière, PARIS, France
2. Inserm 1132, Hôpital Lariboisière, Paris, France
3. Inserm 1132, hôpital Lariboisière, Paris, France
4. Service de Biochimie et de Biologie Moléculaire, Hôpital Lariboisière, Paris, France
5. Service de Rhumatologie Inserm 1132, hôpital Lariboisière, Paris, France
6. Service de Rhumatologie Inserm 1132, Hôpital Lariboisière, PARIS, France
7. Service de Biochimie et de Biologie Moléculaire, Inserm 1132, Hôpital Lariboisière, Paris, France
8. Service de Biochimie et de Biologie Moléculaire, hôpital Lariboisière, Paris, France

**Mots clefs :** ostéoporose, LRP5, Densité Minérale Osseuse

**Résumé :**

Introduction :

L'ostéoporose est une maladie osseuse avec un déterminisme génétique élevé marqué par une héritabilité de la densité minérale osseuse (DMO) de plus de 60% (Soroko *et al.*, 1994). Les études d'association pangénomique ont identifié de nombreux gènes associés à une baisse de la DMO et à un risque de fracture, dont *LRP5* qui code pour la *low density lipoprotein (LDL) related protein (LRP) 5* (Estrada *et al.*, 2012). *LRP5* est responsable de l'ostéoporose pseudogliome, pathologie exceptionnelle, transmise sur un mode autosomique récessif, associant cécité congénitale et ostéoporose juvénile (Jiao *et al.*, 2004). De rares mutations portées à l'état hétérozygote ont été décrites dans des cas d'ostéoporose idiopathique juvénile et de l'homme jeune (Hartikka *et al.*, 2005, Crabbe *et al.*, 2005). Des études à grande échelle ont mis en évidence l'association de deux polymorphismes, p.Ala1330Val (rs3736228, *Minor Allele Frequency (MAF)*: 0.18) et p.Val667Met (rs4988321, *MAF* : 0.03) avec une réduction de la DMO et un risque de fracture accru chez l'adulte (Ferrari *et al.*, 2004, 2005; van Meurs *et al.*, 2008).

Objectif : Effectuer un criblage de *LRP5* pour la recherche de variants chez des patients adultes atteints d'ostéoporose idiopathique.

Matériels et Méthodes : Nous avons analysé 90 patients (50 hommes et 40 femmes de 20 à 50 ans) qui avaient un T-Score inférieur <-4 ou des tassements vertébraux au moment du diagnostic. Le séquençage de *LRP5* a été effectué par méthode Sanger.

Résultats :

Parmi les 90 patients, 23 patients (25,5%) présentaient le variant p.Val667Met à l'état hétérozygote et quatorze (15,5 %) étaient porteurs d'un variant de *LRP5* non décrit dans les différentes bases de données (ExAC, ESP, 1000Genomes). Par ailleurs, deux patients au phénotype le plus sévère (multiples fractures) étaient porteurs à la fois d'un variant non classé et de p.Val667Met à l'état hétérozygote. Le taux de positivité total a donc atteint 41%. Une approche par mutagenèse dirigée à l'aide de la lignée SaOS-2 a permis de valider l'impact fonctionnel des variants identifiés. En effet, une diminution de 20 à 70% de l'activation de la voie de signalisation Wnt, a été observée pour chaque variant testé.

Conclusion :

Notre étude confirme que *LRP5* est un gène majeur dans l'ostéoporose idiopathique du sujet de moins de 50 ans. Le phénotype osseux est amplifié par l'association du polymorphisme p.Val667Met et d'un variant autre. Ces résultats montrent que l'exploration génétique de *LRP5* contribue à définir l'ostéoporose des sujets jeunes et à améliorer dans l'avenir la prise en charge du patient.

**#3161 : Description d'un patient avec mutation TAF1 diagnostiqué par séquençage d'exome : Intérêt du partage de données et du phénotypage reverse pour améliorer la prise en charge et étendre le spectre phénotypique**

**Auteurs :**

Alice Masurel-Paulet (1), Agathe Roubertie (2), Nicolas Baudouin (3), Claudio Rabec (3), Christian Duvillard (4), Daphné Lehalle (1), Nolwenn Jean-Marcais (1), Christel Thauvin-Robinet (1), Laurence Faivre (1)

1. Centre de génétique et Centre de Référence Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs, CHU Dijon, Dijon, France
2. Service de Neuropédiatrie ,Hôpital Gui de Chauliac, Montpellier, Institut des Neurosciences de Montpellier, U1051 de l'INSERM, Université de Montpellier, Montpellier, France
3. Service de pneumologie, CHU Dijon, Dijon, France
4. Service d 'ORL, CHU Dijon, Dijon, France

**Mots clefs :** TAF1, séquençage d'exome, Dystonie-parkinsonisme

**Résumé :**

Nous décrivons le cas d'un jeune homme de 21 ans déficient intellectuel. Il n'est jamais décrit de manifestations neurologiques aiguës en dehors d'un décalage des acquisitions, un torticolis congénital, un ralentissement idéomoteur et une petite amimie. Il présente par ailleurs un habitus longiligne avec arachnodactylie, un visage asymétrique et allongé, avec des yeux enfoncés et un menton pointu, une scoliose évolutive et l'apparition progressive de limitations articulaires. Il suivait une scolarité en IME. A l'âge de 18 ans, est proposée une chirurgie de scoliose évolutive majeure. Sa chirurgie est compliquée d'un arrêt cardio-respiratoire suite à une infection pulmonaire dans un contexte d'insuffisance respiratoire restrictive et d'un larynx remanié suite à une trachéomalacie sévère. Il est depuis dépendant d'une trachéotomie. Dans ce contexte, la demande diagnostique amorcée dans l'enfance a été réactivée et un séquençage de l'exome proposé devant l'absence de diagnostic clinique. Une mutation de novo au sein du gène *TAF1* a été mise en évidence (p.Asn1517His). *TAF1* code pour une sous-unité de TFIIID impliquée dans l'initiation de la transcription. Ce gène a été impliqué dans le syndrome dystonie-parkinsonisme lié à l'X sans déficience intellectuelle. L'activation d'un partage de données international a permis d'identifier une équipe aux USA ayant colligé 10 autres familles avec déficience intellectuelle, dysmorphie faciale récurrente et troubles neurologiques moteurs. Une démarche de phénotypage reverse n'a pas mis en évidence de dystonie franche, discutable au niveau des pieds, mais une bradykinésie notable (hypomimie, diminution du clignement, perte du ballant des bras à la marche) sans rigidité ni tremblement. Un sillon dans la continuité du pli fessier a été mis en évidence, comme les autres patients mutés. Un traitement par Dopa a été mis en route, et un recul à 3 mois semble montrer une diminution de l'akinésie et une amélioration de la qualité de vie. Ce diagnostic montre l'intérêt du séquençage d'exome et du partage de données pour identifier de nouveaux gènes responsables de tableaux cliniques potentiellement reconnaissables. Dans ce cas, il s'agit d'une extension phénotypique du spectre clinique secondaire à des mutations du gène *TAF1*, associant déficience intellectuelle avec dysmorphie faciale, associés à des troubles moteurs évoluant avec l'âge. Des vidéos sont disponibles, et le spectre clinique de la cohorte totale sera présenté. Cette observation montre également l'intérêt du diagnostic pour améliorer la prise en charge des patients.

**#3163 : Mutations d'épissage du gène FGFR2 dans les syndromes de Crouzon et de Pfeiffer: Nouveaux variants et analyse phénotype-génotype.**

**Auteurs :**

Caroline APRA (1), Corinne COLLET (2), Eric ARNAUD (1), Federico DI ROCCO (1)

1. Service de Neurochirurgie pédiatrique, Hôpital Necker-Enfants Malades, PARIS, France
2. Service de Biochimie et de Biologie Moléculaire, Inserm 1132, Hôpital Lariboisière, PARIS, France

**Mots clefs :** craniosténose, FGFR2, épissage

**Résumé :**

Les syndromes de Crouzon et de Pfeiffer sont des craniosténoses syndromiques de transmission autosomique dominant dus à des mutations du gène *FGFR2* (Fibroblast growth factor receptor 2) codant pour un récepteur à activité tyrosine kinase. Les mutations de *FGFR2* entraînent une soudure prématurée des sutures crâniennes, principalement des sutures coronales, associée à une anomalie des extrémités dans le cas du syndrome de Pfeiffer. La plupart des mutations responsables de ces deux syndromes sont des mutations faux-sens localisées au niveau du domaine extracellulaire IgIIIc de *FGFR2* et sont considérées comme des mutations gain de fonction. De rares mutations d'épissage au niveau de l'exon 10 (exon IIIc) sont la cause de ces deux syndromes, mais peu d'études phénotype-génotype relatant de leurs caractéristiques cliniques sont disponibles à ce jour.

Notre objectif a été d'analyser, à partir d'une cohorte de 160 patients atteints d'un syndrome de Crouzon ou de Pfeiffer, les mutations d'épissage et leur impact en clinique. Tous les patients de cette cohorte ont été suivis par le service de Neurochirurgie pédiatrique de l'hôpital Necker-Enfants Malades à Paris. Parmi ces patients, 8 patients, soit 5 % de la totalité des syndromes de Pfeiffer ou de Crouzon, étaient porteurs d'une mutation d'épissage. Quatre de ces mutations n'ont jamais été décrites sur le plan phénotypique. Deux des quatre mutations (940-10T > A, c.994\_1041del) ne sont pas référencées dans les bases de données (ExAC, dbSNP et Exome Sequencing Project). Leur pathogénicité a été évaluée par différents logiciels de prédiction (MaxEnt, NNSPLICE, GeneSplicer and ESEfinder), il s'avère que les mutations d'épissage sont délétères par différents mécanismes (perte du site donneur ou accepteur d'épissage, création de nouveau site d'épissage). Dans le cas du variant, c.994\_1041del, une perte de fixation de différentes protéines trans-régulatrices ESE (Exon Splicing Enhancer) semble probable.

Il en résulte que les diverses mutations d'épissage de *FGFR2* identifiées correspondent à trois phénotypes cliniques et radiologiques distincts 1) syndrome de Crouzon typique 2) syndrome de Crouzon modéré avec scaphocéphalie initiale isolée 3) syndrome de Pfeiffer atypique avec phénotype sévère. En conclusion, les mutations d'épissage de *FGFR2* entraînent des phénotypes qui peuvent être classés en trois groupes cliniques bien différenciés. La description de ces cas permet donc d'améliorer le conseil génétique et le suivi pluridisciplinaire du patient.

**#3167 : Epidémiologie et histoire naturelle des patients atteints de sarcoglycanopathies suivis dans les centres de référence de maladies neuromusculaires d'Île-de-France**

**Auteurs :**

Raquel GUIMARÃES-COSTA (1), France LETURCQ (2), Anthony BEHIN (1), Tanya STOJKOVIC (1), Sarah LEONARD-LOUIS (1), Rabah BEN YAOU (1), Isabelle DESGUERRE (3), Christine BARNERIAS (3), Michèle MAYER (4), Arnaud ISAPOF (4), Brigitte ESTOURNET-MATHIAUD (5), Susana QUIJANO ROY (5), Karim WAHBI (1), Abdallah FAYSSOIL (1), David ORLIKOWSKI (6), Brigitte FAUROUX (7), Claudio SEMPLICINI (8), Bruno EYMARD (1), Pascal LAFORÉ (1)

1. Centre de Référence des Maladies Neuromusculaires Paris-Est, Institut de Myologie, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France
2. Laboratoire de Génétique Moléculaire, Hôpital Cochin, Paris, France
3. Clinique des Maladies du Développement, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
4. Centre de Référence des Maladies Neuromusculaires Paris-Est, Service de Neuropédiatrie, Hôpital d'Enfants Armand-Trousseau, Paris, France
5. Unité de Neuropédiatrie, Hôpital Raymond Poincaré, Paris, France
6. Service de Réanimation et Unité de Ventilation à Domicile, Hôpital Raymond Poincaré, Paris, France
7. Service de Pneumologie Pédiatrique, Hôpital d'Enfants Armand-Trousseau, Paris, France
8. Centre des Maladies Neuromusculaires, Université de Padova, Padova, Italie

**Mots clefs :** Dystrophies des Ceintures, Sarcoglycanopathies

**Résumé :**

Les sarcoglycanopathies sont des dystrophies des ceintures ("limb-girdle muscular dystrophies - LGMD) secondaires aux mutations dans les gènes codant différents composants du complexe des sarcoglycanes (SG). Les sarcoglycanes sont communément classées en LGMD2C ( $\gamma$ -SG), LGMD2D ( $\alpha$ -SG), LGMD2E ( $\beta$ -SG), et LGMD2F ( $\delta$ -SG). La prévalence a été estimée à  $5.6 \times 10^6$  habitants. Cette étude rétrospective décrit 96 patients atteints de sarcoglycanopathie (38  $\alpha$ -SG; 53  $\gamma$ -SG; 5  $\beta$ -SG; 0  $\delta$ -SG) et suivis dans les centres de référence de pathologie neuromusculaire de la région Parisienne. Lors de la dernière évaluation, 63.54% des patients avaient perdu la marche (68.42%  $\alpha$ -SG ; 62.26%  $\gamma$ -SG ; 50%  $\beta$ -SG). La perte de la marche a eu lieu avant l'âge de 18 ans chez 45.8% des patients (47.36%  $\alpha$ -SG ; 47.16%  $\gamma$ -SG ; 20%  $\beta$ -SG) La présence d'une cardiomyopathie dilatée a été observée chez 17.7% des patients (5.3%  $\alpha$ -SG ; 26.4%  $\gamma$ -SG ; 20%  $\beta$ -SG). Par ailleurs, 31.5% des patients requéraient une ventilation non-invasive : aucun patient  $\beta$ -SG ne l'employait, alors que 24.5% des patients  $\gamma$ -SG et 44.7% des patients  $\alpha$ -SG avaient recours à la VNI. Deux patients étaient ventilés par trachéostomie (1  $\alpha$ -SG et 1  $\gamma$ -SG). Les études génétiques ont montré que la mutation hétérozygote R77C chez les patients  $\alpha$ -SG et la délétion homozygote 525T chez les  $\gamma$ -SG sont les plus fréquentes (50% et 88.1%, respectivement). Les patients mutés dans le gène de l' $\alpha$ -SG présentent en premier lieu des mutations « faux-sens », alors que ceux mutés dans le gène de la  $\gamma$ -SG présentent soit des mutations « tronquantes » soit des délétions. Cette étude confirme que les sarcoglycanopathies sont relativement fréquentes et de pronostic fonctionnel sévère car environ 45% ont perdu la marche avant l'âge de 18 ans, et peuvent être considérés comme ayant un phénotype "Duchenne-like". Une meilleure connaissance de l'histoire naturelle de ces maladies est nécessaire afin de préparer les futurs essais thérapeutiques.

**#3185 : Une mutation EPG5, responsable du syndrome de VICI, identifiée dans un cas de polymicrogyrie avec microcéphalie et agénésie du corps calleux**

**Auteurs :**

Camille Maillard (1), Kevin Piquand (1), Jean Philippe Bault (2), Anne Elodie Millischer Bellaiche (3), Despina Moshous (4), Cyril Gitiaux (5), Marlène Rio (6), Cécile Masson (7), Mara Cavallin (1), Sophie Thomas (1), Nathalie Boddaert (3), Nadia Bahi-Buisson (1)

1. INSERM UMR-1163, Embryology and genetics of congenital malformations, Imagine Institute, Paris, France
2. Service Gynécologie-Obstétrique, Hôpital Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France
3. Departments of Pediatrics Radiology, Necker Enfants Malades University Hospital, APHP, Paris, France
4. Unité Immunologie et Hématologie, Necker Enfants Malades University Hospital, APHP, Paris, France
5. Pediatric Neurology, Necker Enfants Malades University Hospital, APHP, Paris, France
6. Departments of Genetics, Necker Enfants Malades University Hospital, APHP, Paris, France
7. Plateforme Bioinformatique, Imagine Institute, Paris, France

**Mots clefs :** EPG5, hétérozygote composite, syndrome de VICI, corps calleux

**Résumé :**

L'association d'une agénésie du corps calleux (ACC) - microcéphalie (MIC) et un trouble de la gyration, dans un contexte non syndromique est une situation rare dépistée en prénatal dont le pronostic neuro-développemental est sévère et le diagnostic étiologique difficile. Nous rapportons le cas d'une petite fille pour laquelle le diagnostic de polymicrogyrie (PMG)/MIC ACC a été évoqué en prénatal et chez qui une mutation dans le gène *EPG5* a été identifiée. Cas clinique : Il s'agit de la seconde enfant de parents non apparentés. Le diagnostic d'ACC-MIC-PMG a été porté à l'imagerie fœtale de 30 semaines d'aménorrhée. Dès la naissance, l'enfant présentait une hypotonie axiale sévère, une laryngomalacie et des troubles d'alimentation. A la dernière évaluation à 3 ans, elle présentait des cheveux fins et clairs, un retard du développement profond, une hypotonie, une aréflexie et un trouble de l'oralité majeur. L'examen ophtalmologique révélait une hypopigmentation du fond d'œil et pas de cataracte. L'échographie cardiaque était normale. Aucune infection n'a été rapportée et le bilan immunitaire était normal. Le bilan métabolique complet et CGH Array à haute résolution (400 kb) étant normaux, un séquençage de l'exome en trio a été réalisé.

Résultats : Deux mutations hétérozygotes composites du gène *EPG5*, une faux sens c.4007G > A (p.Gly1336Glu), hérité de la mère et une stop c.2352\_2352insG (p.Ala785Glyfs\*20), hérité du père ont été identifiées et confirmées.

Discussion : Il s'agit du 1<sup>er</sup> cas de mutations dans *EPG5*, identifiées dans une MCD de type PMG-MIC-ACC. *EPG5* est un des régulateurs clés de l'autophagie, récemment impliqué dans le syndrome de Vici qui associe ACC, hypopigmentation, immunodéficience, cardiomyopathie, cataracte et hypotonie axiale. Nos données permettent d'élargir le spectre phénotypique associé aux mutations *EPG5*, à des MCD de diagnostic prénatal.

#3196 : Anomalies cérébrales associées aux nanismes primordiaux

**Auteurs :**

raphael Levy (1), Celine Huber (2), Sylvain Breton (3), Genevieve Baujat (4), Caroline Michot (4), Joyce El Hokayem (4), Sabine Sigaudy (5), Marjolaine Willems (6), Honorine Kayirawanga (4), Stephanie Luzi (1), Arnold Munnich (7), Nathalie Boddaert (1), Cormier Valerie (4)

1. Service de radiologie pédiatrique, Hôpital Necker - Enfants Malades, Inserm UMR1163 et U1000, Institut Imagine, Université Paris Descartes-Sorbonne Paris Cité, Paris F-75015 France, Paris, France
2. département de génétique , Hôpital Necker - Enfants Malades, Inserm UMR1163 et U1000, Institut Imagine, Université Paris Descartes-Sorbonne Paris Cité, Paris F-75015 France, paris, France
3. Service de radiologie pédiatrique, Hôpital Necker - Enfants Malades, Inserm UMR1163 et U1000, Institut Imagine, Université Paris Descartes-Sorbonne Paris Cité, Paris F-75015 France, paris, France
4. département de génétique , Hôpital Necker - Enfants Malades, Inserm UMR1163 et U1000, Institut Imagine, Université Paris Descartes-Sorbonne Paris Cité, Paris F-75015 France, Paris, France
5. service de génétique médicale, Hopital Timone enfant CHU de Marseille, Marseille, France
6. département de génétique médicale , Hopital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
7. département de génétique , Hôpital Necker - Enfants Malades, Inserm UMR1163, Institut Imagine, Université Paris Descartes-Sorbonne Paris Cité, Paris F-75015 France, Paris, France

**Mots clefs :** nanisme, IRM,

**Résumé :**

**Objectifs :** Définir une corrélation entre les phénotypes cérébraux et les principales mutations retrouvées dans les nanismes primordiaux.

**Matériel et Méthodes :** 15 patients (10 garçons; moyenne d'âge = 11 ans) avec mutation identifiée (Nanisme primordial de type Majewski, *PCNT* = 9 patients ; syndrome de Seckel : *CEP 152* n= 1, *PLK4* n= 1 ; syndrome de Meier-Gorlin : *ORC1* n= 1 ; *LIG 4 / XRCC4/ RTEL1* n= 3). Une analyse rétrospective des IRM cérébrales a été effectuée avec analyse de la gyration : simplification extrême /non extrême, de la myélinisation, du corps calleux, du système ventriculaire, de la fosse postérieure, des structures vasculaires et reconstruction volumique cérébrale et vasculaire.

**Résultats :** Concernant la gyration: Tous les patients mutés *PCNT* 9/9 et *LIG 4 / XRCC4/ RTEL1* (3/3) ont une simplification non extrême. Trois patients ont une simplification gyrale extrême (*CEP 152* n= 1/1, *ORC 1* n=1 et *PLK4* n=1). 7/8 patients *PCNT* ont une gliose temporale qui n'est pas retrouvée chez les patients présentant une autre mutation. 5/15 patients ont un corps calleux dysmorphique (2 *PCNT*, 1 *CEP 152* et 1 *PL4* et 1 *ORC1*). 11/13 patients ont une anomalie vasculaire : 3 anévrismes ont été uniquement retrouvés chez les patients *PCNT*. 8/11 patients ont une variante anatomique du réseau postérieur (5 *PCNT* (dont 1 AVC) / 1 *LIG4/ 1 XRCC4 / 1 ORC1*). 2/15 patients ont une atrophie cérébelleuse (*RTEL1* et *PLK4*). Un seul patient (*PLK4*) a présenté une hétérotopie.

**Discussion**

Tous les patients qui présentent un syndrome de Seckel et le patient Meier Gorlin présentent une simplification gyrale extrême. Les patients *PCNT* présentent tous une simplification gyrale non extrême. Une association de signes radiologiques (simplification gyrale non extrême et gliose temporale et anomalie vasculaire) a été retrouvée chez 6/9 patients *PCNT*. Cette association radiologique pourrait nous permettre d'évoquer le diagnostic génétique de *PCNT* pour des nouveaux patients ayant une clinique compatible. Une angio-IRM sera préconisée dans tous les cas de *PCNT* pour rechercher des anévrismes qui ont été retrouvés dans un 1/3 des cas de notre série.

**#3199 : Intérêt de l'IRM-ASL dans les maladies mitochondriales**

**Auteurs :**

Nathalie Boddaert (1), Marlene Rio (2), David Grevent (1), Hully Marie (3), raphael Levy (1), Simmonet Hina (3), Pascale De Lonlay (4), Isabelle Desguerre (5), Francis Brunelle (1), Agnès Rotig (2), Bonnefont Jean-Paul (2), Arnold Munnich (2)

1. Service de radiologie pédiatrique, Hôpital Necker - Enfants Malades, Inserm UMR1163 et U1000, Institut Imagine, Université Paris Descartes-Sorbonne Paris Cité, Paris F-75015 France, Paris, France
2. département de génétique , Hôpital Necker - Enfants Malades, Inserm UMR1163, Institut Imagine, Université Paris Descartes-Sorbonne Paris Cité, Paris F-75015 France, Paris, France
3. Service de neurologie pédiatrique, Hôpital Necker - Enfants Malades, Université Paris Descartes-Sorbonne Paris Cité, Paris F-75015 France, Paris, France
4. Service de métabolisme pédiatrique, Hôpital Necker - Enfants Malades, Inserm UMR1163, Institut Imagine, Université Paris Descartes-Sorbonne Paris Cité, Paris F-75015 France, Paris, France
5. Service de neurologie pédiatrique, Hôpital Necker - Enfants Malades, Inserm UMR1163, Institut Imagine, Université Paris Descartes-Sorbonne Paris Cité, Paris F-75015 France, Paris, France

**Mots clefs :** maladies mitochondriales, IRM cérébrale, ASL

**Résumé :**

**Introduction**

L'IRM ASL (Arterial Spin Labelling) est une méthode de perfusion cérébrale sans injection, elle permet de mesurer le débit quantitatif cérébral. Nous avons voulu connaître son intérêt dans les pathologies mitochondriales mutées et plus particulièrement pour les mutations de l'ADN mitochondrial *MT-ATP6*.

**Matériel et Méthodes**

4 enfants (moyenne d'âge 6.9 ans) ayant une maladie mitochondriale en rapport avec une mutation *MT-ATP6* ont bénéficié d'une IRM avec ASL (GE 1.5-T).

Les patients 1, 2 et 3 sont porteurs de la mutation 9185:T > C et le 4<sup>ème</sup> patient est porteur de la mutation m.8993T > G.

L'IRM a été réalisée au décours d'une poussée de Leigh ou d'une épilepsie faisant suspecter un stroke-like pour les patients 1,2 et 4. Le patient 3 ne présentait pas de symptôme neurologique aigu lors de son IRM.

**Résultats**

L'IRM anatomique montre des anomalies striales bilatérales dans 4/4, une atrophie cérébelleuse 3/4, anomalie du tronc 0/4, lactate dans 2/3, un hypersignal T2 du cervelet majeur (1/4) et un hypersignal T2 pariéto-occipital unilatéral (1/4).

L'IRM ASL montre un hyperdébit des noyaux gris dans le striatum (230 ml/min) chez les patients 1, 2 et 4 présentant un symptôme aigu alors que le débit est de 90 ml/min chez le patient 3 sans événement neurologique aigu. Le cortex frontal sain mesure chez tous les enfants en moyenne 75 ml/min. Un hyperdébit cérébelleux (200 ml/min) et un hyperdébit occipito-pariétal (292 ml/min) ont été retrouvés dans les 2 cas de stroke-like.

**Discussion**

L'IRM ASL a montré un hyperdébit majeur dans les syndromes de Leigh en poussée et dans les stroke-like. Ceci souligne l'intérêt de l'ASL dans cette pathologie qui permet également de différencier les strokes des stroke-like (ASL étant diminué dans les stroke classiques). Nous suggérons de faire systématiquement de l'ASL dans les déficits neurologiques aigus.

**#3229 : Epidémiologie de la fibrodysplasie ossifiante progressive (FOP) en France, croisement de 2 bases de données**

**Auteurs :**

Geneviève BAUJAT (1), Claude MESSIAEN (2), Stéphane BOUEE (3), Valérie CORMIER-DAIRE (4), Viviane JEANBAT (3), Kim-Hanh Le QUAN SANG (4), Amélie RUEL (2), Caroline MICHOT (4), David LAPIDUS (5), Paul LANDAIS (6), Rémy CHOQUET (2)

1. Centre de Référence Maladies Osseuses Constitutionnelles, Hôpital Necker, PARIS, France
2. BNDMR, Hôpital Necker, Paris, France
3. , CEMKA, Bourg la Reine, France
4. Centre de Référence Maladies Osseuses Constitutionnelles, Hôpital Necker, Paris, France
5. , LapidusData Inc, Oklahoma City, Etats-Unis
6. EA2415, Université de Montpellier, Montpellier, France

**Mots clefs :** Fibrodysplasie Ossifiante Progressive, épidémiologie, bases de données, maladies génétiques rares

**Résumé :**

La FOP est une affection autosomique dominante rare, caractérisée par l'association d'anomalies congénitales des extrémités et la survenue d'épisodes successifs et cumulatifs d'ossifications musculaires irréversibles, conduisant à une ankylose progressive de l'axe vertébral et des membres.

**OBJECTIFS**

La prévalence de la FOP est mal connue, évaluée de façon variable par deux études à 0,36 et 0,61 par million d'habitants. L'objectif de ce travail est d'estimer la prévalence à partir de 2 systèmes de collecte de données nationaux complémentaires en France : données soit provenant de registres (CEMARA et MOC) soit médico-administratives (PMSI) afin notamment d'évaluer les patients non présents dans les registres.

**METHODES**

Cette étude a été réalisée à partir du croisement de CEMARA, base de données des Centres Maladies Rares, existant depuis 2007 (intégrant les patients FOP du registre local du centre de référence MOC établi en 1990, après accord des patients et des professionnels les prenant en charge) et du PMSI, base du Programme de Médicalisation des Systèmes d'Information (données de 2006 à 2012). La date choisie pour l'estimation de la prévalence était le 1<sup>er</sup> janvier 2012. Les patients décédés avant cette date ont été exclus de l'étude.

**RESULTATS**

Les résultats préliminaires sont présentés ci-dessous. Les résultats du croisement des 2 bases ne seront analysés qu'après accord de la CNIL en attente.

- CEMARA et registre du CR MOC

Au 01/01/2012, 85 patients vivants sont identifiés FOP dans CEMARA et résident en France. Pour 63, le diagnostic avait été confirmé à cette date, 10 avaient déjà des symptômes mais sans diagnostic confirmé. Pour le reste (12), ces données sont manquantes. La prévalence est donc de 1,3 cas par million. Parmi ces 85 patients, 52% sont des hommes, l'âge moyen est de 29 ans, 44% ont moins de 20 ans, 48% entre 20 et 60 ans et 8% plus de 60 ans.

- PMSI

Au 01/01/2012, 242 patients sont identifiés dans le PMSI comme ayant été hospitalisés avec un code diagnostic CIM10 de FOP avant cette date et non décédés à cette date. La prévalence estimée est de 3,7 par million. Il est probable que certains de ces patients aient eu ce code diagnostic par excès. Ce point sera examiné après 1) appariement des données avec la base CEMARA et 2) examen plus précis des données issues du PMSI sur ces hospitalisations (autres diagnostics, hospitalisations ultérieures). Parmi ces 242 patients, 44% sont des hommes, l'âge moyen est de 42 ans, 18% ont moins de 20 ans, 60% entre 20 et 60 ans et 22% plus de 60 ans.

**CONCLUSION**

Cette étude préliminaire permet de montrer pour cette pathologie une prévalence supérieure aux études antérieures. Elle montre la pertinence du réseau CEMARA ainsi que le potentiel d'exploitation couplé aux données médico-administratives en France pour les maladies rares. L'étude d'appariement avec le PMSI permettra d'affiner la précision de l'étude qui se situera probablement au-dessus de 1,3 cas par million en France (soit 1/770000 résidents)

**#3240 : Complications de la grossesse chez les patientes porteuses d'une mutation dans le gène *TGFBR1* ou *TGFBR2*. L'expérience du Montalcino Aortic Consortium.**

**Auteurs :**

Myrtille SPENTCHIAN (1), Guillaume JONDEAU (1), Jacques ROPERS (2), Ellen REGALADO (3), Alan BRAVERMAN (4), Arturo EVANGELISTA (5), G. TEIXIDO (5), Julie DE BACKER (6), Laura MUINO MOSQUERA (6), Sophie NAUDION (7), Cécile ZORDAN (7), Takayuki MORISAKI (8), Hiroko MORISAKI (8), Yskert VON KODOLITSCH (9), Sophie DUPUIS-GIROD (10), Shaine MORRIS (11), Richmond JEREMY (12), Sylvie ODENT (13), Maud LANGEAIS (1), Olivier MILLERON (1), Catherine BOILEAU (14), Reed PYERITZ (15), Dianna MILEWICZ (16)

1. CNMR Syndrome de Marfan et apparentés, CHU BICHAT, PARIS, France
2. CNMR Syndrome de Marfan et apparentés, CHU Ambroise Paré, BOULOGNE-BILLANCOURT, France
3. Service de Génétique, UHealth, HOUSTON, Etats-Unis
4. Service de Cardiologie, Washington University, Washington, Etats-Unis
5. Service de Cardiologie, Hospital Universitari Vall d'Hebron, BARCELONA, Espagne
6. Service de Cardiologie, Pediatrics Ghent University Hospital, GENT, Belgique
7. Service de Génétique, CHU BORDEAUX, BORDEAUX, France
8. Service de Cardiologie, National Cerebral and Cardiovascular Center, OSAKA, Japon
9. Service de Cardiologie, UKE - Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf, HAMBURG, Allemagne
10. Service de Génétique, CHU LYON, LYON, France
11. Service de Cardiologie, Texas Children's Hospital, HOUSTON, Etats-Unis
12. Service de Cardiologie, Central Sydney Cardiology, Sydney, Australie
13. Service de Génétique, CHU RENNES, RENNES, France
14. Département de Génétique, CHU BICHAT, PARIS, France
15. Service de Cardiologie, University of Pennsylvania School of Medicine, Philadelphia, Etats-Unis
16. Service de Cardiologie, UHealth, HOUSTON, Etats-Unis

**Mots clefs :** grossesse

**Résumé :**

Le risque de dissection aortique chez les femmes porteuses de mutations dans le gène *TGFBR1* ou *TGFBR2* est mal connu et supposé important au cours de la grossesse.

Une étude internationale réunissant 13 centres à travers le monde a permis de renseigner le sexe, l'âge au diagnostic, la présence des signes cliniques du syndrome de Loeys Dietz (tortuosité artérielle, hypertélorisme, luette bifide...), et la survenue d'événements aortiques (chirurgie préventive, dissection) chez les patientes porteuses de mutations dans les gènes *TGFBR1* et *TGFBR2*.

Les données cliniques et génétiques de 237 femmes (99 femmes porteuses d'une mutation dans le gène *TGFBR1* et 138 femmes porteuses d'une mutation dans le gène *TGFBR2*) ont été collectées. 122 femmes ont eu 316 grossesses (138 grossesses pour des femmes porteuses d'une mutation dans le gène *TGFBR1* et 178 dans le gène *TGFBR2*).

Cinq femmes soit 4% des femmes enceintes porteuses d'une mutation dans le gène *TGFBR2* ou *TGFBR1* ont présenté une dissection au cours d'une grossesse soit 1.6 dissection pour 100 grossesses (4 femmes porteuses d'une mutation dans le gène *TGFBR2* et 1 dans le gène *TGFBR1*).

4 dissections étaient des dissections de type A (3 femmes porteuses d'une mutation dans le gène *TGFBR2* et 1 dans le gène *TGFBR1*). Le diamètre de la racine aortique était de 35mm au moment de la dissection chez une femme *TGFBR2*, et était inconnu chez les autres.

La femme porteuse d'une mutation dans le gène *TGFBR1* avait eu une plastie de l'aorte ascendante en prévision de la grossesse. Chez les autres, le diagnostic n'était pas connu avant la dissection, mais une femme avait eu une plastie de l'aorte ascendante du fait d'un anévrisme aortique d'étiologie indéterminée.

La 5<sup>ème</sup> dissection était une dissection aortique de type B révélatrice de la maladie, survenue au cours de la 3<sup>ème</sup> grossesse chez une femme portant une mutation dans le gène *TGFBR2*.

Il est intéressant de noter que les patientes qui ont eu une dissection aortique au cours de leur grossesse ont plus souvent des signes extra-aortiques rapportés dans le syndrome de Loeys Dietz.

Par ailleurs, aucune complication spécifique (rupture utérine) n'a été rapportée.

En conclusion, dans cette cohorte, le risque de dissection aortique par grossesse est de 0.72% chez les femmes porteuses de mutation dans le gène *TGFBR1* et de 2.24% chez les femmes porteuses de mutation dans le gène *TGFBR2*. La chirurgie préventive ne prévient pas tous les risques. On peut espérer que le diagnostic précoce et le traitement diminuent le taux de ces événements.

## GÉNÉTIQUE CLINIQUE, DÉVELOPPEMENT, FOETOPATHOLOGIE

**#3241 : Les facteurs de risque de dissection aortique chez les patients porteurs d'une mutation dans les gènes *TGFBR1* ou *TGFBR2*. Le Montalcino Aortic Consortium.**

### Auteurs :

Myrtille SPENTCHIAN (1), Guillaume JONDEAU (1), Jacques ROPERS (2), Ellen REGALADO (3), Alan BRAVERMAN (4), Arturo EVANGELISTA (5), G. TEIXIDO (5), Julie DE BACKER (6), Laura MUINO MOSQUERA (6), Sophie NAUDION (7), Cécile ZORDAN (7), Hiroko MORISAKI (8), Takayuki MORISAKI (8), Yskert VON KODOLITSCH (9), Sophie DUPUIS-GIROD (10), Shaine MORRIS (11), Richmond JEREMY (12), Sylvie ODENT (13), Maud LANGEAIS (1), Olivier MILLERON (1), Catherine BOILEAU (14), Reed PYERITZ (15), Dianna MILEWICZ (16)

1. CNMR Syndrome de Marfan et apparentés, CHU BICHAT, PARIS, France
2. CNMR Syndrome de Marfan et apparentés, CHU Ambroise Paré, BOULOGNE-BILLANCOURT, France
3. Service de Génétique, UHealth, HOUSTON, Etats-Unis
4. Service de Cardiologie, Washington University, Washington, Etats-Unis
5. Service de Cardiologie, Hospital Universitari Vall d'Hebron, BARCELONA, Espagne
6. Service de Cardiologie, Pediatrics Ghent University Hospital, GENT, Belgique
7. Service de Génétique, CHU BORDEAUX, BORDEAUX, France
8. Service de Cardiologie, National Cerebral and Cardiovascular Center, OSAKA, Japon
9. Service de Cardiologie, UKE - Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf, HAMBURG, Allemagne
10. Service de Génétique, CHU LYON, LYON, France
11. Service de Cardiologie, Texas Children's Hospital, HOUSTON, Etats-Unis
12. Service de Cardiologie, Central Sydney Cardiology, Sydney, Australie
13. Service de Génétique, CHU RENNES, RENNES, France
14. Département de Génétique, CHU BICHAT, PARIS, France
15. Service de Cardiologie, University of Pennsylvania School of Medicine, Philadelphia, Etats-Unis
16. Service de Cardiologie, UHealth, HOUSTON, Etats-Unis

**Mots clefs :** dissection aortique

### Résumé :

La dissection aortique est la principale complication survenant chez les patients porteurs d'une mutation dans le gène *TGFBR1* ou dans le gène *TGFBR2*. On ne sait pas, actuellement, bien définir les patients à risque de présenter une dissection aortique. Nous avons tiré profit de la cohorte réunie par les centres du Montalcino Aortic Consortium pour rechercher les signes associés à la survenue d'une dissection aortique.

13 centres spécialisés dans les pathologies aortiques d'origine génétique à travers le monde ont renseigné le sexe, l'âge au diagnostic, la mutation, les événements aortiques, le score systémique proposé pour le diagnostic clinique du syndrome de Marfan, la présence des autres signes extra-aortiques rapportés dans le syndrome de Loeys Dietz (tortuosité artérielle, hypertélorisme, lèvre bifide et vergetures), les événements extra-aortiques et la date du dernier suivi de leurs patients porteurs de mutations dans les gènes *TGFBR1* ou *TGFBR2*.

Ces données ont été recueillies par le CNMR sur le syndrome de Marfan et apparentés.

403 patients (159 patients porteurs d'une mutation dans le gène *TGFBR1* et 244 dans le gène *TGFBR2*) ont été étudiés dont 92 ont présenté une dissection aortique. 65% des dissections aortiques sont survenues avant que le diagnostic clinique et génétique ait été établi et ce diagnostic est porté plus tardivement chez les patients ayant présenté une dissection. Le score systémique proposé pour le diagnostic clinique du syndrome de Marfan ne permet pas de définir un groupe à risque de dissection aortique. A l'inverse, la présence de signes extra-aortiques rapportés dans le syndrome de Loeys Dietz est associée à la survenue de dissection aortique. Le risque de dissection aortique est identique pour les patients porteurs d'une mutation dans le gène *TGFBR1* (22%) et *TGFBR2* (23%). Cependant :

- Le diamètre des sinus de Valsalva avant ou au moment de la dissection aortique de type A est en moyenne plus élevé chez les patients *TGFBR1* par rapport aux patients *TGFBR2* (65mm contre 50mm).
- Les dissections aortiques de type B sont moins fréquentes chez les patients *TGFBR1* par rapport aux patients *TGFBR2* (6% contre 12%)
- les hommes *TGFBR1* ont un risque supérieur de dissection aortique ou de chirurgie aortique par rapport aux femmes *TGFBR1* (53.7% des hommes {âge moyen 27ans} contre 29.3% des femmes {âge moyen 34ans})

alors que le risque est le même entre les hommes et les femmes *TGFBR2* (46.2% des hommes {âge moyen 32ans} contre 40.5% des femmes {âge moyen 30ans}).

Une dissection aortique survient chez  $\frac{1}{4}$  des patients, plus fréquemment en présence des signes cliniques du syndrome de Loeys Dietz, et est favorisée par un diagnostic tardif.

La prévalence des événements aortiques diffère en fonction du sexe pour les porteurs de mutation dans le gène *TGFBR1*, alors qu'elle est identique pour ceux ayant une mutation dans *TGFBR2*. Ce résultat pourrait permettre d'affiner les indications chirurgicales.

**#3244 : Mosaïcisme somatique pour une trisomie 9 et une duplication partielle du chromosome 13 en anneau chez un nouveau-né polymalformé**

**Auteurs :**

Lyse RUAUD (1), Elise BRISCHOUX-BOUCHER (2), Juliette PIARD (2), Christelle CABROL (2), Sandra CHANTOT-BASTARAUD (3), Christophe PHILIPPE (4), Jean-Luc BRESSON (5), Paul KUENTZ (5), Lionel VAN MALDERGEM (1)

1. Centre de Génétique Humaine, CHRU de Besançon, Université de Franche-Comté, Besançon, France
2. Centre de Génétique Humaine, CHRU de Besançon, Besançon, France
3. Laboratoire de Cytogénétique, Hôpital Trousseau, Paris, France
4. Laboratoire de Génétique Médicale, CHRU de Nancy, Nancy, France
5. Laboratoire de Cytogénétique, CHRU de Besançon, Besançon, France

**Mots clefs :** mosaïcisme, trisomie 9, trisomie 13 partielle, SNP array, microsatellites, marqueurs

**Résumé :**

Dès lors qu'il existe une association de plusieurs anomalies chromosomiques en mosaïque somatique, son interprétation reste hasardeuse quant à la part du phénotype attribuable à l'une ou l'autre de ses composantes. Les trisomies 9 et 13 en mosaïque sont bien sûr connues individuellement mais leur combinaison l'est moins. Nous en rapportons une observation. Le cas index est le premier enfant d'un couple autochtone. L'échographie du 2ème trimestre avait mis en évidence une urétérocèle droite avec duplication pyélocalicielle. Le poids de naissance était de 2900g (50ème percentile), la taille de 50cm (75ème percentile) et le périmètre crânien de 33cm (30ème percentile) à terme. Hypotonie axiale, difficultés d'alimentation et dysmorphie faciale marquent la période post-natale. On note à l'examen post-natal : télécanthus, macrostomie, pavillon de l'oreille droit décollé, nez épaté, microretrognathisme et front bombant. L'IRM cérébrale réalisée est normale. L'échocardiographie a indiqué la présence d'un double defect septal avec dextroposition de l'aorte et hypoplasie de l'artère pulmonaire corrigée chirurgicalement. L'analyse cytogénétique standard (caryotype et FISH) des lymphocytes périphériques a permis d'identifier 4 clones cellulaires distincts chez le patient parmi les 19 cellules examinées : [5/19] cellules normales, [2/19] cellules avec trisomie 9 complète, [10/19] cellules avec présence d'un marqueur ressemblant à un chromosome annulaire et [2/19] cellules avec les deux chromosomes surnuméraires, la garniture sexuelle étant de type féminin. Par hybridation *in situ* en fluorescence, le marqueur a été identifié comme étant un anneau du chromosome 13. La formule cytogénétique complète peut donc se lire : 47,XX,+9[2]/47,XX,+r(?) [10]/48,XX,+2r(?) [2]/46,XX[5].ish r(13)(WCP13+,D13Z1+).nuc ish(D9Z1X3)[19/200]. Le caryotype lymphocytaire des parents est normal. Une analyse par SNP-array (Single Nucleotide Polymorphism) a permis de quantifier le taux des mosaïques pour la trisomie 9 à 28% et à 19% pour une duplication partielle 13q de 17,5 Mb (bornes minimales : 19,259,939-36,789,636 ; hg19). L'étude de microstatellites localisés dans la région dupliquée (D13S243, D13S742, D13S283, D13S217 D13S305, et D13S219) a indiqué une origine maternelle de celle-ci et sa présence dans 50% des lymphocytes. L'originalité de cette caractérisation est d'avoir réussi, à l'aide de SNP-array et de microstatellites, à déterminer l'origine parentale du remaniement d'un clone et de donner des indications sur la proportion respective des clones, avec cependant des discordances selon la technique utilisée. Le mécanisme de cet événement post-meiotique reste inconnu mais s'apparente à la "mosaic variegated aneuploidy" pour laquelle des mutations de *BUB1B* et *CEP57* ont été incriminées.

**#3245 : Allongement de l'intervalle QT et QTc chez les patients porteurs d'un syndrome de Marfan apparentés avec une mutation identifiée dans le gène *TGFβR2*, une nouvelle donnée à prendre en compte dans la prise en charge des patients.**

**Auteurs :**

Myrtille SPENTCHIAN (1), Fabrice EXTRAMIANA (2), Olivier MILLERON (1), Sandy EL BITAR (2), Gabriel DELORME (1), Florence ARNOULT (1), Isabelle DENJOY (2), Véronique FRESSART (3), Maud LANGEAIS (1), Patrick DE JODE (2), Anne MESSALI (2), Antoine LEENHARDT (2), Catherine BOILEAU (4), M. ABIFADEL (2), Pierre MAISON-BLANCHE (2), A. UCCELINI (2), Guillaume JONDEAU (1)

1. CNMR Syndrome de Marfan et apparentés, CHU BICHAT, PARIS, France
2. Service de Cardiologie, CHU BICHAT, PARIS, France
3. Service de Cardiologie, CHU LA PITIE SALPETRIERE, PARIS, France
4. Département de Génétique, CHU BICHAT, PARIS, France

**Résumé :**

La mortalité associée aux mutations du gène *TGFBR2* est rapportée au risque de dissection ou rupture aortique. Deux jeunes femmes porteuses d'une mutation dans le gène *TGFBR2* et suivies au CNMR Syndrome de Marfan et Apparentés ont présenté une mort subite. L'autopsie a éliminé une dissection aortique. Une des deux jeunes femmes avait déjà présenté une mort subite ressuscitée sept ans avant son décès et le diagnostic retenu était celui de QT-Long. Chez ces deux femmes, l'ECG a montré des anomalies de la repolarisation ventriculaire.

Nous avons donc évalué, rétrospectivement, l'effet des mutations dans le gène *TGFBR2* sur la repolarisation ventriculaire à partir de l'étude des ECG enregistrés chez les patients porteurs d'une mutation *TGFBR2* suivis dans le CNMR Syndrome de Marfan et Apparentés.

58 patients porteurs d'une mutation dans le gène *TGFBR2* ont été comparés avec 46 apparentés non porteurs de la mutation issus de 25 familles différentes.

La durée de l'intervalle QTc Fridericia est de  $408 \pm 29$ ms chez les patients porteurs d'une mutation dans le gène *TGFβR2* contre  $385 \pm 23$ ms chez les apparentés sains.

L'intervalle QTc est donc significativement allongé chez les patients porteurs d'une mutation dans le gène *TGFβR2*.

Nos résultats suggèrent que les mutations *TGFBR2* sont associées, en plus du risque de dissection aortique, à un risque rythmique dont le mécanisme pourrait être une anomalie de la repolarisation ventriculaire. Ceci 1) est un argument en faveur d'un traitement par bêta-bloquants dans cette population 2) suggère d'éviter la prescription de médicament allongeant l'intervalle QT chez les patients porteurs d'une mutation *TGFBR2*.

**#3254 : Apport du séquençage d'exome dans la caractérisation clinique et moléculaire de patients adressés pour dysplasie fronto-nasale**

**Auteurs :**

Daphné Lehalle (1), Paul Kuentz (1), Julien Thevenon (1), Dominique Bonneau (2), Mélanie Fradin (3), Marion Gérard (4), Alice Goldenberg (5), Tanguy Martin Denavit (6), Alice Masurel (1), Marlène Rio (7), Sandra Whalen (8), Bettina Bessieres (9), Eric Bieth (10), Valérie Cormier-Daire (7), Patrick Edery (6), David Geneviève (11), Sophie Julia (10), Didier Lacombe (12), Sandrine Marlin (7), Sylvie Odent (3), Julie Plaisancié (10), Audrey Putoux (6), Christel Chauvin (1), Laurence Faivre (1), Patrick Callier (1)

1. Fédération Hospitalo-Universitaire Médecine Translationnelle et Anomalies du Développement (TRANSLAD), Centre Hospitalier Universitaire Dijon, 21079 Dijon, France, Dijon, France
2. Service de Génétique Médicale, CHU d'Angers 49933 Angers Cedex 9, France, Angers, France
3. Service de Génétique Médicale, CHU de Rennes - Hôpital Sud, 35203 Rennes Cedex 2, France, Rennes, France
4. Service de Génétique Médicale, Hôpital Clémenceau, CHU de Caen, 14033 Caen, Caen, France
5. Service de Génétique Médicale, CHU de Rouen - Hôpital Charles Nicolle 76031 Rouen, Rouen, France
6. Service de Génétique Médicale, CHU de Lyon HCL - GH Est - Hôpital Femme Mère Enfant, 69677 Bron Cedex, Lyon, France
7. Service de Génétique Médicale, Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, Institut IMAGINE UMR\_S1163, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, Paris, France
8. Service de Génétique Médicale, Hôpital Pitié Salpêtrière, Paris, France
9. Service d'Histologie-Embryologie-Cytogénétique, Hôpital Necker-Enfants malades, Paris, France
10. Service de Génétique Médicale, CHU de Toulouse, Toulouse, France
11. Service de Génétique Médicale, CHU de Montpellier, Montpellier, France
12. Service de Génétique Médicale, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France

**Mots clefs :** dysplasie fronto-nasale, exome

**Résumé :**

Les dysplasies fronto-nasales (DFN) sont des malformations rares de la face caractérisées par l'association à des degrés divers d'un hypertélorisme, d'une fente faciale médiane, et d'anomalies nasales (pointe bifide, narines fendues). Peuvent s'y associer une déficience intellectuelle, des malformations oculaires, cérébrales, notamment du corps calleux, ou viscérales. Il existe une grande hétérogénéité clinique et génétique, liée d'une part à la rareté de ces syndromes qui entraîne leur méconnaissance par les cliniciens, et d'autre part au manque de bases moléculaires dans la plupart des entités décrites. Les mutations des gènes de la famille *ALX* entraînent des DFN de transmission autosomique récessive (*ALX1*, *ALX3*, *ALX4*) ou dominante (*ALX4*). Le syndrome cranio-fronto-nasal (CFN), de transmission dominante liée à l'X, est causé par des mutations du gène *EFNB1*. Plus récemment, des mutations hétérozygotes dans les gènes *ZSWIM6* et *SPECC1L* ont été décrites dans des syndromes de DFN acromélique pour le premier, et d'Opitz B/BBB et de Teebi pour le second. Enfin, les syndromes oculo-auriculo-fronto-nasal (OAFN), oculo-cérébro-cutané (OCC) et Pai, fréquemment révélés par une DFN au premier plan, n'ont pas de base moléculaire connue à ce jour.

Nous rapportons ici une série de 30 individus adressés pour étude ciblée des gènes *ALX* dans le cadre d'une DFN. Le séquençage ciblé des gènes *ALX1*, *ALX2*, *ALX3*, réalisé chez 20 patients, a mis en évidence une variation hétérozygote, sans deuxième événement retrouvé, chez une patiente. Un travail de phénotypage a visé à individualiser différentes entités cliniques : 16 DFN, 5 syndromes OAFN, 4 syndromes OCC, 1 syndrome de Teebi, et 1 syndrome CFN. Chez ce dernier, le séquençage ciblé du gène *EFNB1* a révélé une mutation *de novo*. La stratégie moléculaire a consisté en un séquençage de l'exome en trio chez six patients pour lesquels de l'ADN du trio était disponible. Ont été retrouvées des mutations nouvelles dans des gènes connus (*YWHAE*, *OTX2* et *SPECC1L*) chez trois individus initialement classés comme DFN, syndrome OCC et syndrome de Teebi, ainsi qu'un variant *de novo* dans un gène candidat chez un fœtus avec DFN. Des cohortes de réplication sur des patients avec un phénotype similaire sont en cours de séquençage. Le séquençage de l'exome est encore en cours chez trois patients.

Cette série et ces résultats mettent en avant l'apport du séquençage d'exome dans l'identification de bases moléculaires sous-tendant les syndromes avec DFN, permettant une meilleure description clinique de ces entités rares ainsi que l'élargissement du spectre phénotypique de syndromes connus.

## GÉNÉTIQUE CLINIQUE, DÉVELOPPEMENT, FOETOPATHOLOGIE

**#3256 : L'Institut Jérôme Lejeune : une équipe pluridisciplinaire dédiée aux patients avec déficience intellectuelle d'origine génétique- L'expérience du suivi des patients avec le syndrome X Fragile**

### **Auteurs :**

Clotilde MIRCHER (1), Martine CONTE (1), Eric LE GALLOUDEC (1), Anne-Sophie REBILLAT (1), Cécile CIEUTA-WALTI (1), Isabelle MAREY (1), Laura CRETU (1), Franck STURTZ (1), André MEGARBANE (1), Silvia SACCO (1), Charles BOUIS (1), Jennifer GALLARD (1), Samantha STORA (1), Marie-Odile RETHORE (1), Aimé RAVEL (1)

1. , Institut Jérôme Lejeune, Paris, France

**Mots clefs :** X Fragile; suivi médical longitudinal

### **Résumé :**

Depuis 1997, L'institut Jérôme Lejeune (IJL) offre des consultations spécialisées à visée diagnostique et pour le suivi médical des patients avec déficience intellectuelle d'origine génétique, tout au long de la vie. Les consultations de référence sont proposées une à deux fois par an, durent 1 h, et sont suivies éventuellement d'autres consultations médicales spécialisées, de bilan orthophonique, neuropsychologique, évaluation sociale et soins infirmiers.

Nous suivons environ 7500 patients dont 80% ont une trisomie 21, 106 ont un syndrome de l' X Fragile, et des patients avec d'autres anomalies chromosomiques ou génétiques plus rares (délétion 5p, syndromes microdélétionnels, syndrome de Rett, etc.), ainsi que des patients en attente de diagnostic génétique. Le but de ces consultations est de prévenir et soigner les comorbidités pour prévenir les sur-handicaps et assurer la meilleure qualité de vie possible. Elles ont également comme but d'orienter la prise en charge rééducative, étayer l'orientation scolaire et professionnelle, ainsi que l'insertion sociale. L'IJL est impliqué dans des protocoles de recherche épidémiologique et thérapeutiques, et développe une biobanque (CRB- BioJel), à la disposition de la communauté scientifique.

22 femmes et 82 hommes avec syndrome X Fragile sont actuellement suivis à l'IJL, dont 50% ont moins de 20 ans, et deux ont plus de 60 ans. Nous présentons les caractéristiques médicales et psychiatriques de ces patients au cours de la vie, et leur parcours scolaires et mode de vie à l'âge adulte (domicile, travail). Les complications médicales les plus fréquentes sont : les otites récurrentes, les problèmes orthopédiques, l'apnée du sommeil et l'épilepsie. Les troubles psychiatriques d'intensité variable sont présents chez 70% des patients, et chez 90% de ceux qui ont une épilepsie associée. Comme attendu, les femmes ont un meilleur niveau scolaire et plus d'autonomie. 65% des enfants suivent une scolarité adaptée, et 35% des adultes travaillent en milieu adapté. Il est à noter que 5% des enfants et 12% des adultes sont sans prise en charge, et que 18% des adultes de plus de 40 ans vivent encore dans leur famille.

**#3262 : Spectre clinique associé aux mutations du gène SATB2**

**Auteurs :**

marlene rio (1), adrienne Elmorjani (1), giulia barcia (1), jean-paul bonnefont (1), sylvain hanein (1), arnold munnich (1)

1. service de génétique, Hôpital Necker - Enfants Malades, Inserm UMR1163, Institut Imagine, Université Paris Descartes-Sorbonne Paris Cité, Paris F-75015 France - Paris - France, paris, France

**Mots clefs :** déficience intellectuelle, dentition temporaire, dentition définitive

**Résumé :**

Il a récemment été établi que des altérations du gène SATB2 étaient responsables d'une déficience intellectuelle syndromique. A ce jour, 10 patients ont été rapportés dans la littérature, 8 patients avec mutation ponctuelle, et deux patients avec duplication intragénique.

Nous rapportons 4 patients non apparentés présentant une déficience intellectuelle syndromique en rapport avec une altération du gène SATB2.

Le 1<sup>er</sup> patient est un garçon de 8 ans présentant une déficience intellectuelle sévère avec hyperactivité. Il a marché à 2 ans, a été propre à 5 ans. Il a un trouble sévère du langage oral, avec moins d'une vingtaine de mots à son vocabulaire, absence de construction de phrase et d'association de deux mots. Néanmoins il est capable de communiquer en utilisant plus de 25 signes. Il s'est fracturé l'humérus à 7 ans. Il a un tag pré-auriculaire, un hirsutisme, un philtrum long et lisse, un palais étroit, des chevauchements dentaires et une macrodontie des dents temporaires et définitives.

Le deuxième patient, un garçon de 5 ans, a un retard psychomoteur et une hyperactivité. Il a marché à 22 mois. Il n'a pas de langage et n'est pas propre. Il a une malocclusion dentaire de type II, avec une mâchoire étroite, un chevauchement dentaire, des dents de laits larges et de forme anormale, un philtrum lisse et une lèvre supérieure fine.

Le patient 3 est une fille âgée de 7 ans qui a une déficience intellectuelle avec trouble sévère du langage oral, capable d'utiliser moins de dix mots et 5 signes pour communiquer. Elle a été opérée à l'âge de 4 mois et 2 ans d'une fente palatine de découverte néonatale. La marche a été acquise à 21 mois. Elle s'est fracturée le tibia à 2 ans. Elle a un chevauchement dentaire, une macrodontie des dents temporaires et définitives, un philtrum lisse, un prognathisme et un synophris.

Le 4<sup>ème</sup> patient n'a aucun langage à 7 ans. Il a marché à 23 mois et s'est fracturé l'humérus à 2 ans. Il a une macrodontie des dents temporaires et définitives et une lèvre supérieure fine.

Le séquençage haut débit ciblé d'un panel de 250 gènes impliqués dans la déficience intellectuelle a identifié une mutation de novo du gène SATB2 pour les patients 1,2 et 3, et une délétion intragénique du gène SATB2 pour le patient 4.

L'analyse phénotypique fine de ces 4 patients, et la revue de la littérature, permet de mieux définir le spectre clinique associé aux mutations du gène SATB2. Nous soulignons l'absence de dysmorphie faciale reconnaissable mais la présence d'anomalies dentaires constantes, similaires et très reconnaissables. Fait intéressant, ces anomalies dentaires touchent la dentition définitive mais également temporaire ce qui permet d'évoquer précocement le diagnostic.

#3269 : Résistance héréditaire à la 1, 25(OH)<sub>2</sub> D : étude de 7 observations

**Auteurs :**

salma ben ameur (1), fatma damak (1), neila belguith (2), imen chabchoub (1), fatma kamoun (1), lamia sfaihi (1), caroline slive (3), mongia hachicha (1)

1. , Service de pédiatrie CHU Hedi Chaker, Sfax, Tunisie, SFAX, Tunisie
2. , Service de génétique médicale CHU Hédi Chaker Sfax, SFAX, Tunisie
3. , Laboratoire d'oncogénétique groupe hospitalier Cochin, Paris, France, France

**Mots clefs :** Rachitisme vitamino-résistant, TYPE II, VDR, traitement

**Résumé :**

**Introduction :** Le rachitisme vitamino-résistant pseudocarentiel type II (RVR type II) ou résistance héréditaire à la 1, 25(OH)<sub>2</sub> D est une affection autosomique récessive rare qui résulte de mutations sur le gène codant le récepteur de la 1,25(OH)<sub>2</sub> D (VDR). Les objectifs de notre étude : étudier les aspects épidémiologiques, cliniques, para cliniques et génétiques de cette pathologie et discuter les modalités thérapeutiques et évolutives.

**Patients et méthodes :** étude rétrospective de 7 cas de RVR type II colligés dans le service de pédiatrie de Sfax durant une période de 7 ans (Janvier 2008- Décembre 2014).

**Résultats :** Il s'agit 4 filles et 5 garçons. L'âge moyen de diagnostic était de 2 ans (8 mois - 3ans). Une consanguinité parentale a été notée chez 6 patients. Les signes osseux de rachitisme ont dominé le tableau clinique chez nos patients. L'alopécie, un trait caractéristique du RVR type II a été notée chez 6 patients. L'étude génétique a été réalisée chez 5 patients. La mutation p.K45E, localisée au niveau du domaine de liaison à L'ADN (DBD) a été trouvée chez 3 patients consanguins ayant une alopécie. La deuxième mutation trouvée est la p.T415R, localisée au niveau du domaine de fixation du ligand (LBD) et non décrite avant dans la littérature. Cette patiente n'avait pas d'alopécie. L'étude génétique est en cours pour une patiente. La prise en charge thérapeutique était basé sur une substitution par (6-18 µg/j) et des perfusions intraveineuses de gluconate de calcium sur voie veineuse périphérique de façon hebdomadaire avec calcium par voie orale (1 à 3 g/j) entre les perfusions. Une amélioration nette des signes de rachitisme a été notée dans 5 cas. Chez la patiente ayant la mutation p.T415R, nous avons noté l'absence d'amélioration. Un patient est décédé par pneumopathie aigue rachitique à l'âge de 4 ans.

**Conclusion :** Le RVR type II est une pathologie sévère qui requière un diagnostic et une prise en charge précoces. La résistance au traitement de ces malades est variable : partielle ou totale. L'étude génétique permet de proposer à la famille un conseil génétique et de guider la prise en charge thérapeutique.

#3276 : Dilatation ventriculaire cérébrale fœtale: bilan étiopathogénique de 131 observations

**Auteurs :**

Sihem Darouich (1), Bettina Bessières (2), Jelena Martinovic (2), Maryse Bonnière (2), Charlotte Mechler (2), Lucile Boutaud (2), Constance Wells (2), Suzanne Chartier (2), Valerie Malan (2), Michel Vekemans (2), Tania Attié Bitach (2), Féréchté Encha Razavi (2)

1. Unité de Foetopathologie, Hôpital Universitaire Habib Bougatfa , Bizerte, Tunisie
2. Département de Génétique, Hôpital Universitaire de Necker-Enfants malades, Paris, France

**Mots clefs :** Foetus, Dilatation ventriculaire, Hydrocéphalie

**Résumé :**

**Objectif :** La dilatation ventriculaire cérébrale fœtale (DVC) est un signe échographique fréquent, souvent de mauvais pronostic. Le conseil génétique se heurte à la diversité morphologique et étiopathogénique de ces malformations cérébrales. Pour améliorer la prise en charge des DVC, nous avons voulu faire le point sur les données étiopathogéniques d'une cohorte de 131 fœtus atteints, examinés à l'Hôpital Universitaire de Necker-Enfants malades et de proposer des pistes de recherche pour une meilleure prise en charge.

**Patients et méthodes :** Bilan rétrospectif fœto-neuropathologique et étiologique (Caryotype et/ou CGH 400KB, recherche ciblée de mutations, NGS). Les DVC associées aux spina bifida (malformation de Chiari type II), la dilatation isolée de V4 (malformation de Dandy-Walker) et les infections materno-fœtales avérées ne sont pas retenues.

**Résultats :** Quatre groupes pathologiques sont identifiés: Groupe I, DVC liée à une anomalie du tronc cérébral et du cervelet (39 %) avec 9 causes identifiées (2 déséquilibres génomiques, 5 mutations dans les gènes *L1CAM* et *PDHA1*, 2 causes exogènes, prise de rétinoïdes, diabète gestationnel non équilibré) ; Groupe II, DVC en rapport avec une malformation de la plaque corticale (8 %), liée à une  $\alpha$ -dystroglycanopathie dans 6 cas (*POMT1*, *POMT2*, *POMTGnT1*, *ISPD*, *B3GALNT2*), une tubulinopathie dans un cas (*TUBB3*) ; Groupe III, DVC ischémohémorragique (32 %) associée à une mutation dans le gène *COL4A2* dans un cas, une pathologie maternelle dans trois cas (allo-immunisation plaquettaire, infection materno-fœtale, diabète) et une prise d'anti-épileptique dans un cas; Groupe IV, DVC non spécifique (21 %), avec une grande diversité pathogénique et génique (*BBS2*, *COL1A2*, *FGFR3*,...). Le groupe I est dominé par les anomalies de l'aqueduc de Sylvius (atrésie/sténose). Le groupe II correspond surtout aux malformations de la plaque corticale responsables d'un comblement de l'espace arachnoïdien. Le groupe III est représenté par des remaniements post-hémorragiques, nécrotiques, ou le plus souvent nécrotico-hémorragiques. Le groupe IV concerne des DVC non spécifiques (sans obstacle, ni malformation corticale, ni lésion clastique). Le mécanisme de la DVC est précisé dans 79 % des cas. Au total, les causes génétiques (chromosomiques et géniques) et exogènes sont identifiées dans 28/131 cas (21 %).

**Conclusion :** Notre bilan étiopathogénique des DVC fœtales démontre que l'examen neuropathologique est un outil puissant pour l'identification des mécanismes de la DVC. Il a surtout permis l'identification de groupes pathologiques homogènes et démontré la rareté des diagnostics moléculaires, notamment dans les groupes I et III, représentant la majorité des cas. Une prise en charge plus ciblée de ces groupes en fonction de leur pathogénie devrait améliorer cette situation.

**Auteurs :**

Sylvie BANNWARTH (1), Cécile ROUZIER (1), Annabelle CHAUSSENOT (1), Samira Ait-EI-Mkadem (1), Gaëlle AUGÉ (1), Sandra FOUSTOUL (1), Bernadette CHAFINO (1), Christelle CAMUSO (1), Véronique PAQUIS-FLUCKLINGER (1)

1. Service de Génétique Médicale, CHU Nice, Nice, France

**Mots clefs :** NGS, maladies mitochondriales

**Résumé :**

Les pathologies mitochondriales sont très hétérogènes tant sur le plan clinique que moléculaire car liées à des mutations de l'ADN mitochondrial (ADNmt) ou à des mutations de l'ADN nucléaire. Le diagnostic de ces pathologies repose uniquement sur l'identification du gène responsable. L'analyse de l'ADNmt est complexe à cause des taux d'hétéroplasmie (pourcentage ADN muté/ADN sauvage) très variables nécessitant des techniques plus sensibles que celles utilisées pour l'analyse de l'ADN nucléaire. Ainsi, le séquençage Sanger n'est pas optimal puisqu'il ne permet pas de détecter des variations nucléotidiques dont le pourcentage est inférieur à 20%. L'analyse des anomalies nucléaires est également difficile dans ces pathologies puisque plus de 1000 gènes sont impliqués dans le fonctionnement de la chaîne respiratoire. Dans la très grande majorité des cas, le gène responsable n'est pas connu.

L'avènement du Séquençage Haut Débit (NGS) a permis d'améliorer grandement notre capacité diagnostique. Au CHU de Nice, l'analyse est réalisée sur des plateformes Life Technologies Ion Torrent.

Dans un premier temps, le séquençage de l'ADNmt est réalisé à partir de 2 PCR grand fragment (PCR-XL) chevauchantes. La préparation de la librairie est réalisée par le Library Builder qui permet de fragmenter les PCR en fragments de 200pb et de liquer les adaptateurs et les barre-codes. La PCR en émulsion et le chargement des puces 316v2 sont réalisés par le Ion Chef. Six échantillons sont séquencés par puce 316 sur un Ion PGM. L'analyse bioinformatique est réalisée à partir du Plugin Variant Caller présent dans le Torrent Server. L'interprétation des variants identifiés est réalisée grâce aux logiciels Mitomap, mtdb, MitImpact. Toutes les variations délétères sont confirmées en Sanger et/ou en PCR-RFLP, cette dernière technique permettant de quantifier le taux d'hétéroplasmie. Sur 200 patients séquencés, nous avons retrouvé une mutation connue dans 9% des cas et un variant potentiellement pathogène dans 2,5% des cas. Des études fonctionnelles sont ensuite réalisées pour valider la pathogénicité de ces variants potentiellement délétères.

Dans un deuxième temps, lorsque le séquençage de l'ADNmt est négatif, nous poursuivons l'analyse par le séquençage d'un panel de gènes nucléaires ciblés (281 gènes) comprenant les principaux gènes responsables de pathologies mitochondriales et des gènes candidats. La librairie est préparée par capture en phase liquide (SureSelect, Agilent). La PCR en émulsion et le chargement des puces PI sont réalisés par le Ion Chef. Les échantillons sont ensuite séquencés sur un Ion Proton. En l'absence de mutation dans le panel de gènes nucléaires, un séquençage d'exome peut être réalisé.

Le NGS a clairement révolutionné le diagnostic moléculaire des pathologies mitochondriales en permettant un screening exhaustif rapide de l'ADNmt et une analyse globale des gènes nucléaires impliqués dans ces maladies extrêmement hétérogènes sur le plan génétique.

#3285 : Un cas d'isodisomie uniparentale du chromosome 6 dans le déficit en 21-Hydroxylase

**Auteurs :**

Véronique TARDY-GUIDOLLET (1), RITA MENASSA (1), DOMINIQUE BOGGIO (2), CLAIRE-LISE GAY (3),  
LAURENCE MICHEL-CALEMARD (1), YVES MOREL (1)

1. Endocrinologie Moléculaire et Maladies Rares, GHE, BRON, France
2. Génétique Clinique, HCL, BRON, France
3. Endocrinologie Pédiatrique, HFME, BRON, France

**Mots clefs :** Déficit en 21-hydroxylase, disomie uniparentale

**Résumé :**

Le déficit en 21-hydroxylase, maladie autosomique récessive, est dû à des mutations ponctuelles du gène *CYP21A2* de sévérité variable. Le gène *CYP21A2* est situé en 6p21.3 dans une région dupliquée. Le phénotype des patients est déterminé par la mutation la moins sévère et deux formes cliniques existent : la forme sévère dite classique avec ou sans perte de sel clinique due à des lésions responsables d'une activité 21-hydroxylase nulle ou très faible, la forme modérée dite non classique avec une mutation modérée sur au moins un allèle.

Nous rapportons le cas d'un garçon atteint de forme classique de déficit en 21-hydroxylase posé suite au dépistage néonatal positif (17OHP sur buvard à 642 nmol/L). Il est né à terme mais avec un RCIU (poids 1840 g), a présenté une déshydratation avec hyponatrémie à 125 mmol/L. Les résultats des dosages ont confirmé la forme classique. Le séquençage de la totalité du gène *CYP21A2* (région 5'régulatrice, exons et introns) a détecté un profil homozygote pour l'association de 2 mutations sévères : mutation p.I172N dans l'exon 4 + triple mutation p.I236N, p.V237G, p.M239K dans l'exon 6. Le séquençage ciblé du gène chez ses parents a retrouvé cette association à l'état hétérozygote chez sa mère mais pas chez son père. La recherche d'une large lésion du gène *CYP21A2* par technique MLPA (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification, kit P050 C1 MRC-Holland) s'est avérée négative. Plusieurs hypothèses ont été posées : erreur de prélèvement, survenue *de novo* des mutations sur l'haplotype paternel de l'enfant, existence d'une mosaïque germinale chez le père. L'étude de 7 microsatellites extragéniques situés de part et d'autre du gène *CYP21A2* a retrouvé l'absence d'haplotype paternel chez l'enfant et un profil homozygote pour un des 2 haplotypes maternels. Suspectant une éventuelle isodisomie uniparentale du chromosome 6 d'origine maternelle, nous avons réalisé l'étude comparative de 11 autres microsatellites situés sur le chromosome 6 en 6p12.2 retrouvant chez l'enfant un profil homozygote pour un des haplotypes maternels et l'absence d'haplotype paternel ; l'étude de 18 microsatellites situés sur d'autres chromosomes (kit Identifier, Life technologies) a retrouvé un haplotype paternel et un haplotype maternel différents chez l'enfant.

L'isodisomie uniparentale peut être responsable d'une maladie autosomique récessive, elle est connue pour le chromosome 7 responsable de la mucoviscidose avec une mutation homozygote du gène *CFTR*. Elle n'a jamais été décrite à ce jour dans le déficit en 21-hydroxylase, le gène *CYP21A2* muté porté par le chromosome 6 est hérité en double dose par l'enfant atteint de déficit en 21-hydroxylase. L'isodisomie du chromosome 6 est la plus fréquente des disomies uniparentales d'origine paternelle associant retard de croissance intra-utérin, diabète néonatal transitoire alors que dans le cas d'une origine maternelle seul est décrit un retard de croissance intra-utérin comme chez cet enfant.

#3304 : Mutations d' ARID1A chez 3 fœtus atteints de syndrome de Coffin-Siris avec agénésie du corps calleux

**Auteurs :**

Caroline Alby (1), Sophie Patrier (2), Mathilde Lefebvre (3), Jelena Martinovic (4), Aude Tessier (2), Amale Ichkou (5), Kevin Piquand (1), L Testard (6), Nicole Laurent (7), Christine Bole (8), Patrick Nitschke (9), Yannis Duffour (3), Christel Thauvin-Robinet (3), Laurence Faivre (10), Julien Thevenon (3), Daphné Lehalle (3), Annie Laquerrière (2), Ferechte Encha-Razavi (5), Paul Kentz (3), Lucile Boutaud (5), Tania Attié-Bitach (11)

1. INSERM U1163, Institut Imagine, Paris, France
2. Anatomopathologie, CHU Rouen, Rouen, France
3. Génétique, CHU Dijon, Dijon, France
4. Histologie-Embryologie-Cytogénétique, Hopital Antoine Béclère, Paris, France
5. Histologie-Embryologie-Cytogénétique, Necker-Enfants Malades, Paris, France
6. pédiatrie, Centre hospitalier du Belvédère, Mont Aint Aignant, France
7. Anatomopathologie, CHU Dijon, Dijon, France
8. plateforme génomique, Institut Imagine, Paris, France
9. plateforme bioinformatique, Institut Imagine, Paris, France
10. Génétique des Anomalies du Développement , Université de Bourgogne , Dijon, France
11. Histologie-Embryologie-Cytogénétique et INSERM U1163, Necker-Enfants Malades et Institut Imagine, Paris, France

**Mots clefs :** corps calleux-foetopathologie-développement-génétique-NGS-Coffin-Siris

**Résumé :**

Le syndrome de Coffin-Siris (CSS, OMIM 135900) est caractérisé par une déficience intellectuelle, une hypoplasie ou une aplasie de la phalange distale ou l'ongle du 5° doigt, un faciès grossier et une hypertrichose. De nombreux autres signes sont possibles avec une grande variabilité clinique. D'hérédité autosomique dominante, ce syndrome est génétiquement hétérogène, avec 6 gènes connus à ce jour: *ARID1A* (1p36.1-p35), *ARID1B* (6q25.3), *SMARCA2* (9p24.3), *SMARCA4* (19p13.3), *SMARCB1* (22q11.23), et *SMARCE1* (17q21.2), codant pour des protéines du complexe SWI/SNF impliquées dans le remodelage de l'ADN, et suppresseurs de tumeur. Le gène le plus fréquemment muté est *ARID1B* avec plus de 70 patients décrits dans la littérature et un déficit intellectuel constant et variable. Seuls 8 cas de CSS par mutation d'*ARID1A* ont été publiés à ce jour, tous des cas pédiatriques dont la mutation était en mosaïque somatique.

Nous décrivons trois fœtus porteurs de mutations tronquantes *de novo* d'*ARID1A* (NM\_006015.4) : c.4886dup, p.Val1630Cysfs\*18 ; c.2733-2A > C, r.2733\_2740del, (p.911fs\*21) et c.4859\_4860dupA, p.Pro1621Tyrfs\*6) présentant des syndromes polymalformatifs comprenant une agénésie complète du corps calleux pour les trois et un canal atrio-ventriculaire pour deux. Les signes associés comprennent une dysmorphie craniofaciale, une clinodactylie avec absence de la dernière phalange des 5° doigts, une agénésie des coupes diaphragmatiques, et un hamartome hypothalamique pour le premier; une fente palatine, une agénésie thymique, une anomalie de lobulation pulmonaire, une persistance de la veine cave supérieure gauche, une hydrocéphalie, une hypoplasie vermienne et une dysplasie rétinienne pour le deuxième ; une dysmorphie faciale des anomalies du *situs* pulmonaire et hépatique, un méésentère commun, des anomalies rénales, des fémurs courts et une artère ombilicale unique pour le troisième. Chez ce dernier, l'examen neuropathologique retrouvait une dilatation tétra-ventriculaire associée à des lésions cavitaires sous corticales et des noyaux gris profonds, et d'autres anomalies cérébrales multiples. Dans les trois cas, la balance allélique des mutations est de 50% par séquençage haut débit, sans argument pour une mosaïque somatique.

Ces résultats confirment le large spectre phénotypique du syndrome de Coffin-Siris dont les formes les plus sévères sont associées à des mutations d'*ARID1A*. Ils illustrent en particulier la fréquence élevée des agénésies du corps calleux dans ce syndrome. Enfin, le diagnostic précis et le conseil génétique adapté dans nos 3 familles ont été rendus possibles grâce au séquençage haut débit couplé à l'examen foetopathologique complet.

**#3322 : Variabilité phénotypique et hétérogénéité de l'atteinte artérielle dans la vasculopathie associée au gène *TGFβ2***

**Auteurs :**

Jean-Michaël MAZZELLA (1), Michael FRANK (1), Patrick COLLIGNON (2), Maud LANGEAIS (3), Anne LEGRAND (1), Nadine HANNA (3), Guillaume JONDEAU (3), Xavier JEUNEMAITRE (1), Catherine BOILEAU (3), Juliette ALBUISSON (1)

1. APHP, Centre de Référence des Maladies Vasculaires Rares ; Université Paris-Descartes Paris, France, Hôpital Européen Georges Pompidou, PARIS, France
2. Service de Génétique Médicale, Toulon, France., Centre Hospitalier Intercommunal Toulon-La Seyne-sur-Mer., TOULON, France
3. APHP, Centre de Référence National Syndromes de Marfan et apparentés ; Université Paris-Diderot, Paris, France , Hôpital Bichat-Claude-Bernard, PARIS, France

**Mots clefs :** Vasculopathie associée au gène *TGFβ2* , Variabilité phénotypique , Atteinte vasculaire diffuse

**Résumé :**

L'association de dissections, d'anévrismes de l'aorte thoracique et de certaines caractéristiques morphotypiques peut être évocatrice d'une maladie syndromique, dont les plus fréquentes sont le syndrome de Marfan, le syndrome d'Ehlers-Danlos vasculaire ou le syndrome de Loeys-Dietz. Un nombre croissant de gènes impliqués dans ces vasculopathies, et codant des protéines de la voie de signalisation du *TGFβ*, ont été identifiés. Récemment, des variations perte de fonction du gène *TGFβ2* ont été décrites dans une nouvelle forme d'aortopathie héréditaire, caractérisée en plus de la fragilité aortique par une insuffisance mitrale et une atteinte cérébrovasculaire.

Nous décrivons une grande famille française porteuse d'une vasculopathie syndromique. Le cas index, un homme de 44 ans, a développé un anévrisme de la racine de l'aorte à l'âge de 37 ans. Il présente des antécédents familiaux évocateurs (trois décès subits, et divers accidents artériels). A l'examen clinique, le patient présente plusieurs signes compatibles avec une forme syndromique d'aortopathie (habitus longiligne, morphotype facial, hyperlaxité articulaire diffuse et à prédominance distale, scoliose dorsale, pied-bot, luxation congénitale de hanche, hernie inguinale bilatérale, agénésie du grand pectoral). Plusieurs gènes de vasculopathies ont été testés chez le cas index, une délétion hétérozygote c.[996del] ; p.(Leu332Trpfster27) dans le gène *TGFβ2* induisant un codon stop prématuré a été identifiée. Après enquête familiale, trois de ses tantes et deux de ses enfants sont porteurs du variant pathogène. Une tante de 60 ans est asymptomatique mais porteuse d'anévrismes des artères iliaques primitives. Deux autres tantes ont été respectivement opérées d'une dissection aortique thoracique à l'âge de 24 ans, et d'une rupture d'anévrisme intracrânien à l'âge de 42 ans. Le fils du cas-index âgé de 9 ans présente une dilatation aortique ascendante avec bicuspidie aortique et sa fille, âgée de 18 ans, ne présente pas de lésions artérielles. Il existe donc une variabilité phénotypique intrafamiliale avec des atteintes aortiques sévères et précoces, des lésions des artères de moyen calibre, mais également une pénétrance incomplète de ces événements vasculaires. Par ailleurs, plusieurs membres de cette famille présentent des signes cutanés et squelettiques (morphotype facial, hyperlaxité, scoliose, hématomes faciles), ainsi qu'une atteinte modérée de la valve mitrale.

En conclusion, nos données suggèrent (1) que la vasculopathie associée à *TGFβ2* doit être envisagée devant tout patient présentant une atteinte aortique ascendante avec ou sans lésions des artères systémiques de moyen calibre, des artères cérébrales ou de signes morphotypiques d'une maladie du tissu élastique, (2) que le dépistage familial doit être réalisé systématiquement, y compris en l'absence de complications artérielles, (3) que la surveillance médicale doit inclure une imagerie des artères de moyen calibre.

## GÉNÉTIQUE CLINIQUE, DÉVELOPPEMENT, FOETOPATHOLOGIE

**#3325 : Expérience du Centre de Fœtopathologie en Languedoc Roussillon : Evolution sur 5 ans de la place de l'examen fœto-placentaire après une Interruption Médicale de Grossesse.**

### Auteurs :

Marie Josée PEREZ (1), Nicole BIGI (1), Yuri MUSIZZANO (2), Sylviane DOUTRE (2), Valérie COSTES (2), Manon GIRARD (3), Pierre MARES (4), Pierre SARDA (5), David GENEVIÈVE (5), Patricia BLANCHET (5)

1. Département de Génétique Médicale, Unité de fœtopathologie, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
2. Département d'Anatomie et Cytologie Pathologiques, Unité de fœtopathologie, Hôpital Gui de Chauliac, Montpellier, France
3. Laboratoire de Génétique Chromosomique, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
4. Service de Gynécologie-Obstétrique, Hôpital Universitaire Carémeau, Nîmes, France
5. Département de Génétique Médicale, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France

**Mots clefs :** fœtopathologie, IMG, évolution

### Résumé :

Le Centre de Fœtopathologie situé au CHRU de Montpellier (Hôpital Arnaud De Villeneuve) pratique les examens fœto-placentaires pour les structures publiques et privées de la région. Le but de l'examen est le diagnostic précis pour le conseil génétique.

La région Languedoc-Roussillon compte environ 30000 naissances par an ; le nombre d'examens fœto-placentaires réalisés par le Centre de fœtopathologie correspond à 1% des naissances dont 0,4% sont des examens fœto-placentaires après Interruption Médicale de Grossesse.

Nous présentons l'activité du centre sur 5 ans (2010-2014) en considérant uniquement les fœtus issus des IMG discutées dans les deux Centres Pluridisciplinaires de Diagnostic Prénatal du Languedoc Roussillon (CHRU Montpellier-CHU Nîmes).

Nous nous proposons d'analyser l'évolution du nombre d'examens dans la période de janvier 2010 à fin décembre 2014, réalisés après une demande d'IMG émanant du CPDPN de Nîmes ou Montpellier. Entre 2010 et 2014, le centre de fœtopathologie a réalisé 657 examens fœto-placentaires post-IMG ce qui représente 45% des indications d'IMG.

Nous observons une diminution du nombre d'examens fœto-placentaires : en 2010 les examens représentent 61% des indications d'IMG avec une stabilisation autour de 40% les années suivantes. Peut-on déterminer les différents facteurs économiques, médicaux, démographiques qui peuvent modifier la place de cet examen ?

Les évolutions des investigations anténatales -imagerie, explorations biologiques et génétiques- ont elles un impact sur le nombre d'examens fœto-placentaires ?

Et enfin, l'évolution des investigations d'imagerie post-mortem a-t-elle une influence sur l'acceptation de cet examen ?

**#3336 : Déficit en NGLY1, une nouvelle maladie métabolique**

**Auteurs :**

JAMAL GHOUMID (1), MARJOLAINE WILLEMS (2), KARINE MENTION (3), SYLVIE JORIOT (4), ANNE-SOPHIE BERNARD (5), LAURENCE FAIVRE (6), SYLVIE MANOUVRIER (1), JEAN-BAPTISTE RIVIERE (7), Catherine VINCENT-DELORME (8)

1. Génétique Clinique - RADEME (maladies génétiques Rares du Développement et du Métabolisme), Hôpital Jeanne de Flandre - CHRU, LILLE, France
2. Département de Génétique Médicale, CHRU Montpellier, MONTPELLIER, France
3. Centre de référence des maladies héréditaires du métabolisme, Hôpital Jeanne de Flandre - CHRU, LILLE, France
4. Neuropédiatrie, Hôpital Roger Salengro - CHRU, LILLE, France
5. Médecine et Réanimation Néonatale, CH Arras, ARRAS, France
6. Centre de Génétique et Centre de Référence Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs, Hôpital d'Enfants, Dijon, France
7. Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU Dijon, Dijon, France
8. Génétique Clinique, Hôpital Jeanne de Flandre - CHRU, LILLE, France

**Mots clefs :** Déficit en NGLY1, déficience intellectuelle, hypoplasie cérébelleuse, exome

**Résumé :**

Au sein des désordres métaboliques, les anomalies de la glycosylation constituent un groupe d'affections cliniquement et génétiquement hétérogènes, de mieux en mieux démembrées. Une nouvelle erreur innée du métabolisme, secondaire à un déficit en peptide N-Glycanase (PNGase, également nommé NGLY1), et affectant la déglycosylation des protéines a récemment été caractérisée. Une trentaine de patients sont décrits à ce jour, leurs mutations ont été identifiées par séquençage de l'exome. Nous rapportons les 3 premiers cas français et le premier diagnostic positif par séquençage ciblé.

Le tableau clinique comporte invariablement alacrymie ou hypolacrymie, mouvements choréo-athétosiques, microcéphalie, hypotonie et retard des acquisitions. Il existe fréquemment une épilepsie et une constipation. Aucun marqueur biochimique ne signe cette affection. L'isoélectrofocalisation de la transferrine, qui met en évidence les anomalies de glycosylation est normale. L'élévation de l' $\alpha$ -foetoprotéine et des transaminases est inconstante et transitoire. Il s'agit d'une pathologie au pronostic très sévère, de transmission récessive autosomique. La plupart des patients diagnostiqués à ce jour sont porteurs de mutations tronquantes. Toutefois, il existe probablement des phénotypes moins sévères, notamment pour des génotypes moins délétères et il est donc possible que l'affection soit sous-diagnostiquée.

A peine reconnue comme une nouvelle entité, ce déficit enzymatique a conduit plusieurs équipes à mener simultanément des travaux pour tenter de mieux en comprendre la physiopathologie. NGLY1 est impliqué dans le contrôle qualité des protéines N-glycosylées du réticulum endoplasmique. Si la modification post-traductionnelle est défectueuse, la protéine anormale est exportée dans le cytoplasme et va être déglycosylée par NGLY1. Il s'agit de l'étape clé de l'ERAD (Endoplasmic Reticulum-Associated Degradation). En l'absence de NGLY1, les protéines glycosylées défectueuses sont prises en charge par l'ENGase (l'endo- $\beta$ -N-acétylglicosaminidase). Il s'en suit la formation de N-GlcNac protéines, qui très probablement s'accumulent dans le cytoplasme et pourraient ainsi être responsables, au moins en partie, du tableau clinique.

Parallèlement, divers axes thérapeutiques (pharmacologique, enzymothérapie) sont en cours d'évaluation, sous la formidable impulsion des familles. En effet, la diffusion rapide de l'information par internet, le rôle croissant des associations et les échanges entre parents ont largement contribué à la reconnaissance de cette affection, ignorée jusqu'alors, pour l'une des familles françaises. Ces nouveaux « partenaires », acteurs moteurs de notre discipline devront à l'avenir être de plus en plus pris en compte dans notre pratique quotidienne.

**#3355 : Hétérogénéité clinique et biochimique des maladies mitochondriales liées aux mutations du gène  
BCS1L**

**Auteurs :**

Annabelle Chaussenot (1), Samira Ait-El-Mkadem (1), Konstantina Fragaki (1), Cécile Rouzier (1), Sylvie Bannwarth (2), Véronique Paquis-Flucklinger (1)

1. Service de Génétique Médicale, Centre de référence des maladies mitochondriales, IRCAN UMR7284 / INSERM U1081 / UNS, CHU de Nice, Nice, France

2. Service de Génétique Médicale, Centre de référence des maladies mitochondriales, IRCAN UMR7284 / INSERM U1081 / UNS, CHU de Nice, Nice, France

**Mots clefs :** Maladie mitochondriale, BCS1L, OXPHOS, GRACILE, Acidose lactique néonatale

**Résumé :**

*BCS1L*, codant pour une protéine chaperonne impliquée dans l'assemblage du complexe III, est le principal gène responsable de maladies mitochondriales avec déficit en complexe III. Différents phénotypes de sévérité très variable ont été rapportés allant du syndrome de Björnstad au syndrome GRACILE, en passant par des formes intermédiaires incluant une acidose lactique et des atteintes rénales ou hépatiques, parfois associé à une encéphalopathie. Nous rapportons ici 3 nouveaux cas issus de 2 familles, ayant permis l'identification de 3 nouvelles mutations *BCS1L* et illustrant la variabilité phénotypique.

Le premier cas est un garçon, issu d'une union non-consanguine franco-africaine, décédé à 5mois d'un syndrome GRACILE. Il a présenté une acidose lactique néonatale, associée à un retard de croissance, une tubulopathie de type Fanconi, une insuffisance hépatocellulaire avec cholestase modérée et une surcharge en fer. Les explorations mitochondriales montraient un déficit en complexe I et III sur le muscle et le foie avec un défaut d'assemblage du complexe III sur le muscle. Le deuxième cas est un garçon âgé de 8ans, issu d'une union consanguine d'origine marocaine, présentant une encéphalopathie épileptique. L'épilepsie a débuté à l'âge de 4 mois, devenant pharmaco-résistante à 1 an, avec l'apparition d'un retard psychomoteur (RPM) et d'un retard staturo-pondéral important lié à un reflux gastro-oesophagien sévère. A l'âge de 2ans, il a régressé vers une tétraparésie avec mouvements choréo-athétosiques. Le bilan retrouvait des lactates augmentés dans le sang et le LCR, une discrète élévation de certains acides aminés dans les urines, un épisode de cholestase résolutif, et une atrophie cérébrale à l'IRM cérébrale. L'étude de la biopsie musculaire a mis en évidence une surcharge lipidique, un déficit généralisé de la chaîne respiratoire et un défaut d'assemblage de la totalité des complexes, prédominant sur les complexes I, III, et IV. Son frère aîné âgé de 9ans, présentait uniquement un retard psychomoteur.

Quatres mutations, dont 3 nouvelles, ont été retrouvées dans le gène *BCS1L* à l'état hétérozygote composite pour ces 3 patients. Contrairement au premier cas dont la spécificité clinico-biochimique a amené à séquencer directement le gène, la deuxième famille a nécessité le recours au séquençage d'exome. Ces 3 nouveaux cas illustrent le large spectre clinique, la variabilité intra-familiale, l'hétérogénéité des anomalies biochimiques et l'existence de nouvelles origines ethniques associés à *BCS1L*, suggérant ainsi que son implication dans les maladies mitochondriales est probablement sous-estimée.

**#3378 : Les mutations récessives pertes de fonction de SPTAN1 entraînent une agénésie du corps calleux et une cardiopathie**

**Auteurs :**

Linda Mouthon (1), Caroline Alby (2), Nicole Laurent (3), Lucile Boutaud (4), Amale Ichkou (4), Kevin Piquand (1), Christel Thauvin-Robinet (5), Louise Devisme (6), Stanislas Lyonnet (1), Patrick Nitschké (7), Christine Bole (8), Michel Vekemans (1), Sophie Thomas (1), Salima El Chehadeh (9), Tania Attié-Bitach (2)

1. INSERM U1163, Institut Imagine, Paris, Paris, France
2. INSERM U1163, Institut Imagine, Paris, Paris, France
3. Service d'anatomie pathologique, CHU de Dijon, France, Dijon, France
4. Département de Génétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, APHP, Paris, Paris, France
5. GAD EA4271 Génétique des Anomalies du Développement, CHU de Dijon, France, Dijon, France
6. Centre de biologie pathologie génétique, Institut de pathologie, CHRU de Lille, Lille, France
7. Plateforme de Bioinformatique, Institut Imagine, Paris, Paris, France
8. Plateforme de génomique, Institut Imagine, Paris, Paris, France
9. GAD EA4271 Génétique des Anomalies du Développement, CHU de Dijon, France, Dijon, France

**Mots clefs :** Spectrine, SPTAN1, séquençage haut-débit, encéphalopathie épileptique, corps calleux, foetus

**Résumé :**

Le gène *SPTAN1* code pour la spectrine  $\alpha$ -II qui est une protéine d'échafaudage nécessaire au système nerveux et au développement cardiaque. Chez l'homme, des mutations dominantes négatives de *SPTAN1* localisées dans les deux dernières répétitions du domaine C-terminal sont responsables d'encéphalopathie épileptique infantile précoce (EIEE5) associée à des anomalies cérébrales, dont une hypoplasie du corps calleux.

Afin d'identifier de nouvelles causes génétiques de malformation du corps calleux, nous avons utilisé une stratégie de séquençage ciblé à haut débit, nommé « callosome », comprenant 423 gènes connus dont le gène *SPTAN1*, dans une cohorte de 101 foetus.

Le séquençage du callosome a identifié deux mutations hétérozygotes composites de *SPTAN1* chez un foetus avec une agénésie complète du corps calleux associée à une hypoplasie du cervelet, du tronc cérébral et du vermis, une hypoplasie sévère du cœur gauche, des anomalies oculaires sévères et une dysmorphie faciale. La mutation non-sens c.466C > T (p.Arg156 \*) d'origine paternelle, conduit à une dégradation de l'ARN messager. La mutation c.1086-2A > G d'origine maternelle introduit un nouveau site cryptique accepteur d'épissage conduisant à une délétion de 39 nucléotides dans l'ARN messager de *SPTAN1* (r.1086\_1124del). Le fait que les deux parents soient bien portants suggère que la perte de fonction de *SPTAN1* n'est pas pathogène. Le phénotype foetal sévère est concordant avec le modèle murin d'inactivation de la spectrine  $\alpha$ -II (*Span2*<sup>-/-</sup>), qui est par conséquent un excellent modèle pour cette maladie autosomique récessive. Ces résultats mettent en évidence l'hétérogénéité allélique au locus *SPTAN1* chez l'homme, étendent le groupe des spectrinopathies neuronales, et illustrent l'importance des spectrines dans le cerveau et le développement cardiaque.

**#3381 : Déficience intellectuelle avec agénésie partielle du corps calleux liée à l'X : identification d'une mutation délétère du gène *L1CAM***

**Auteurs :**

Audrey Putoux (1), Muriel Bozon (2), Renaud Touraine (3), Amélie Piton (4), Bénédicte Gérard (5), Laurent Guibaud (6), Damien Sanlaville (1), Patrick Edery (1), Valérie Castellani (2), Pascale Saugier-veber (7)

1. Service de Génétique et Centre de Recherche en Neurosciences de Lyon, INSERM U1028, CNRS UMR 5292, équipe GENDEV, Hospices Civils de Lyon et Université Claude-Bernard Lyon 1, Lyon - Bron, France
2. Centre de Génétique et de Physiologie Moléculaire et Cellulaire, UMR CNRS 5534, Université Lyon 1, Villeurbanne, France
3. Service de Génétique Clinique, Chromosomique et Moléculaire, CHU - Hôpital Nord, Saint-Etienne, France
4. Département de Médecine translationnelle et Neurogénétique, IGBMC, CNRS UMR7104/INSERMU964, Université de Strasbourg, Illkirch, France
5. Laboratoire de diagnostic génétique, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
6. Département d'Imagerie Pédiatrique et Foetale et Centre Pluridisciplinaire de Diagnostic Prénatal, Hôpital Femme Mère Enfant - Hospices Civils de Lyon, Lyon - Bron, France
7. Service de Génétique et INSERM U1079, Centre Normand de Génomique Médicale et Médecine Personnalisée, CHU de Rouen et Université de Rouen, IRIB, Rouen, France

**Mots clefs :** *L1CAM*, agénésie du corps calleux, déficience intellectuelle liée à l'X

**Résumé :**

Le corps calleux est la principale commissure cérébrale. Il intervient dans le transfert des informations inter-hémisphériques, jouant ainsi un rôle crucial dans l'intégration des informations sensorielles, motrices et visuo-motrices, et dans certaines fonctions cognitives supérieures (langage, abstraction). Avec une incidence de 0,5 à 70/10 000, l'agénésie du corps calleux (ACC) est une malformation neurologique fréquente. Les étiologies génétiques sont nombreuses, l'ACC pouvant s'intégrer dans des syndromes monogéniques ou résulter d'anomalies chromosomiques. Nous rapportons une famille dans laquelle 5 hommes sur 2 générations présentent une déficience intellectuelle associée à une agénésie postérieure et une dysgénésie antérieure du corps calleux, avec une généalogie évoquant une hérédité récessive liée au chromosome X. Une analyse de liaison génétique a permis d'identifier deux loci sur le chromosome X dont une région de 8 Mb en Xq28, incluant le gène *L1CAM*. Le séquençage direct de ce gène a retrouvé une variation faux-sens localisée dans le 5ème domaine fibronectine de la protéine (c.3226A>C ; p.Thr1076Pro), jamais rapportée, prédite comme non délétère par Align GVGD, SIFT et Polyphen2 et comme délétère par Mutation Taster. Les données de séquençage à haut-débit de 275 gènes impliqués dans les déficiences intellectuelles n'ont pas permis d'identifier d'autres variations plus prometteuses. Afin de tester son éventuelle pathogénicité, des tests fonctionnels ont été réalisés. La variation a été introduite par mutagenèse dirigée dans le cDNA du gène *L1CAM* cloné dans pcDNA3.1. En transfectant ces constructions dans des cellules COS7A, nous avons pu montrer que la localisation membranaire de la protéine *L1CAM* mutée était réduite en comparaison à la protéine sauvage, et qu'elle s'accumulait dans le réticulum endoplasmique. Ces données nous ont permis de conclure à la pathogénicité de la variation c.3226A>C.

Les mutations du gène *L1CAM* sont responsables d'un large spectre clinique comprenant l'hydrocéphalie liée à l'X avec sténose de l'aqueduc de Sylvius, le syndrome MASA (Mental Retardation, Aphasia, Shuffling gait, Adducted thumbs) et une forme de paraplégie spastique associée à une déficience intellectuelle (SPG1). L'agénésie partielle du corps calleux liée à l'X n'a été rapportée à *L1CAM* que dans une seule famille. Nous rapportons ici la deuxième famille, avec 5 patients présentant une déficience intellectuelle légère à modérée avec agénésie partielle du corps calleux sans signes habituellement associés aux mutations de *L1CAM* (hydrocéphalie, syndrome pyramidal, pouce adductus, absence de langage). Un nombre croissant de variations nucléotidiques étant détecté par les techniques de séquençage à haut-débit, la description précise des phénotypes et le recours aux tests fonctionnels constituent une aide précieuse pour l'interprétation de ces variations.

**#3383 : Duplication de RUNX2, une forme méconnue d'ostéoporose infantile avec dysplasie de l'émail dentaire : 3 nouveaux cas et analyse de la littérature**

**Auteurs :**

Genevieve Baujat (1), Victoria Queyrol (2), Fabienne Poulin (2), Martin Biosse-Duplan (3), Valérie Malan (4), Michel Veckemans (4), Caroline Michot (1), Arnold Munnich (1), Valérie Cormier-Daire (1), Serge Romana (4)

1. Département de Génétique Médicale, Centre de Référence Maladies Osseuses Constitutionnelles, Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, Institut Imagine, Hôpital Necker-Enfants malades, Paris, France
2. Unité de Cytogénétique, Université Paris Descartes ; Institut Imagine, Hôpital Necker-Enfants Malades, AP-HP, Paris, France
3. NSERM U781, Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, Institut Imagine, Hôpital Necker-Enfants malades, Paris, France
4. Unité de Cytogénétique, Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, Institut Imagine, Hôpital Necker-Enfants malades, Paris, France

**Mots clefs :** duplication RUNX2, ossification endochondrale, ossification membraneuse, amélogenèse imparfaite

**Résumé :**

CBFA1 est un facteur de transcription codé par *RUNX2*, ayant un rôle majeur dans le développement osseux et la minéralisation, régulant à la fois la différenciation des chondrocytes et celle des ostéoblastes. Il a été récemment démontré que la duplication de 105-kd comprenant les exons 3 à 5 de *RUNX2* est associée à la « dysplasie métaphysaire avec hypoplasie maxillaire et brachymétacarpie inconstante » (MDMHB, OMIM 156510) ainsi qu'à des tableaux d'oligodontie isolée. Les études de transfection murine de cette duplication des exons 3-5 ont montré une activité de transactivation augmentée, suggérant un effet gain de fonction chez les patients MDMHB, a contrario de l'effet perte de fonction de ce gène associé à la dysplasie cleïdo-crânienne. Cette entité, plus classique et mieux décrite, associe une hypoplasie des clavicules et des branches ischio-pubiennes, une large fontanelle et des anomalies dentaires.

La MDMHB n'a été rapportée que chez 3 familles (2 canadiennes et 1 finlandaise) et est caractérisée par une dysplasie métaphysaire, un épaississement des clavicules et des os du pubis, une ostéoporose, des os wormiens, et une coloration anormale des dents. Nous avons identifié 3 enfants de 2 familles distinctes présentant un tableau concordant à la MDMHB. Ces 3 enfants avaient été référés pour suspicion d'ostéogenèse imparfaite devant l'ostéoporose avec anomalies dentaires. La CGHarray et l'étude en Q-PCR a détecté de façon ciblée une duplication des exons 2 à 6 de *RUNX2* résultant en une duplication des domaines fonctionnels QA et RUN de CBFA1. De façon intéressante, dans ces deux familles, la RT-PCR a montré que les pères étaient porteurs de cette duplication en faible mosaïque.

Nous décrivons de façon précise les caractéristiques cliniques et radiologiques de cette forme particulière d'ostéoporose avec dents anormales, contre-type partiel de la dysplasie cleïdo-crânienne, et dont les manifestations sont liées à l'augmentation de l'expression fonctionnelle de *RUNX2* sur la formation de l'ossification endochondrale et membraneuse, ainsi que sur le processus odontogénique. Il s'agit probablement d'un phénotype sous-diagnostiqué associant ostéoporose, anomalies osseuses et trouble de l'émail dentaire de l'enfant.

#3398 : Déficit en prolidase : étude du spectre phénotypique et description de nouveaux patients

**Auteurs :**

Marta Spodenkiewicz (1), Giorgos Fitsialos (2), Dominique Gaillard (1), Anne-Sophie Lebre (1)

1. Service de génétique, CHU Reims, Hôpital Maison Blanche, REIMS, F-51092, France, Reims, France
2. DNALogy, , Athènes, Grèce

**Mots clefs :** maladie métabolique, prolidase, gène *PEPD*, déficience intellectuelle, lésions cutanées

**Résumé :**

La prolidase est une enzyme ubiquitaire qui joue un rôle majeur dans le métabolisme des protéines riches en proline dont les collagènes. Le déficit en prolidase est une maladie très rare de transmission autosomique récessive avec un âge de début très variable (naissance à âge adulte). Son incidence est estimée à 1 sur 1 à 2 millions de naissances. Elle est caractérisée par l'association inconstante de symptômes tels que : déficience intellectuelle, lésions cutanées, splénomégalie et cytopénie. Le diagnostic du déficit en prolidase peut être clinique mais repose surtout sur le bilan métabolique. La mise en évidence d'une excrétion massive de dipeptides contenant de la proline peut être mise en évidence sur la chromatographie des acides aminés urinaires. Le diagnostic est confirmé par l'étude moléculaire du gène *PEPD*. Devant la suspicion de déficit en prolidase dans une fratrie issue d'une famille grecque avec notion de consanguinité, et en l'absence d'étude moléculaire disponible en France, nous avons mis en place le diagnostic moléculaire par séquençage du gène *PEPD*. Nous rapportons ici 2 nouveaux patients chez lesquels a été identifié un nouveau variant très probablement pathogène à l'état homozygote dans le gène *PEPD*. Compte tenu du phénotype extrêmement variable des patients décrits, nous avons réalisé une méta-analyse de la littérature afin de décrire le spectre phénotypique des patients et de rechercher des corrélations génotype-phénotype.

**#3400 : OrphanOmiX : valorisation académique de compétences bioinformatiques appliquée à la génétique**

**Auteurs :**

Julien Thevenon (1), Emilie Tisserant (2), Thibaut Jouan (3), Paul Kuentz (4), Judith St-Onge (3), Alexia Cossard (3), Alexandre Coillot (2), Jean-Baptiste Rivière (3), Christel Thauvin-Robinet (1), Laurence Faivre (1), Yannis Duffourd (5)

1. Centre de Génétique et Centre de Référence Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs, CHU Dijon, DIJON, France
2. , SATT Grand Est , DIJON, France
3. GAD EA4271, Université Bourgogne Franche-Comté, DIJON, France
4. Laboratoire de génétique moléculaire, Plateau Technique de Biologie, CHU Dijon, DIJON, France
5. Fédération Hospitalo-Universitaire TRANSLAD, CHU Dijon, DIJON, France

**Mots clefs :** génétique, anomalies du développement, valorisation, transfert, séquençage haut-débit, exome, diagnostic

**Résumé :**

La Fédération Hospitalo-Universitaire TRANSLAD est dédiée à la recherche translationnelle sur les anomalies du développement. Dans cette volonté de recherche translationnelle, il est proposé un séquençage d'exome diagnostique pour les patients de la région depuis 2 ans. La mise en place de cette activité a requis l'identification de ressources informatiques, biologiques et médicales, l'acquisition de compétences spécifiques. La dynamique commerciale du renouvellement des appareils de séquençage cumulée à une nécessité de débit important pour assurer une reproductibilité des résultats nous a poussé à favoriser les compétences d'analyse et d'interprétation des données de séquence. Au cours des dernières années, de nombreux outils ont été élaborés, permettant une analyse à façon des données de séquençage et la création d'un pipeline d'analyse entièrement automatisé. OrphanOmiX propose donc l'utilisation de ces savoir-faire et outils à l'ensemble de la communauté scientifique et médicale, désireuse d'obtenir une analyse pertinente de ses données de séquençage massif en parallèle, et propose un service d'analyse de ces données allant du contrôle qualité des données non-alignées jusqu'à la production de rapports de variants rares pour interprétation clinico-biologique. Des analyses spécifiques peuvent être évoquées, notamment dans le cas de travaux de recherche collaboratifs. Il est également possible de bénéficier de formation à l'analyse et l'interprétation de variations génétiques, du conseil pour l'installation d'un pipeline local.

En complément, un service d'exome diagnostique est proposé en collaboration avec le CHU de Dijon, proposant un délai de rendu de résultat de moins de 4 mois après réception des échantillons biologiques. Dans le cadre de ce service, 27 examens ont été réalisés ou sont en cours de réalisation au cours des 9 premiers mois de 2015. Parmi eux, 12 comptes-rendus ont été émis dont 8 rapportant au moins un événement génomique en rapport avec la pathologie décrite, soit un rendement diagnostique de 66 %. La nature de l'examen permet également une relecture annuelle des cas négatifs afin de prendre en considération l'évolution des connaissances scientifiques.

**Auteurs :**

ZOE FERTIER (1), VINCENT PROBST (2), PHILIPPE CHEVALIER (3), PHILIPPE CHARRON (4)

1. Filière nationale de santé Cardiogen, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France
2. Centre de référence pour les maladies rythmiques héréditaires, Institut du thorax, Centre Hospitalier Universitaire, Nantes, France
3. Centre de référence des troubles du rythme cardiaque d'origine génétique, Hospices Civiles de Lyon, Lyon, France
4. Centre de référence des maladies cardiaques héréditaires, service de génétique, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France

**Résumé :**

La filière nationale de santé CARDIOGEN a été labélisée en 2014 par le Ministère de la Santé dans le cadre du Plan Maladies Rares n°2.

La filière CARDIOGEN est structurée autour de la prise en charge des maladies cardiaques héréditaires et elle regroupe trois centres de références (dont un multi-site), vingt-deux centres de compétence, trois associations de patients, les sociétés savantes ainsi que les laboratoires de recherche et de diagnostic génétique concernées par ces maladies.

Ces pathologies, que l'on peut regrouper en deux grandes familles, les cardiomyopathies (hypertrophique, dilatée, restrictive, ventriculaire droite arythmogène, non compaction du ventricule gauche, etc) et les troubles du rythme « isolés » (syndrome du QT long, du QT court, syndrome de Brugada, tachycardie ventriculaire catécholergique, syndrome de repolarisation précoce, etc), représentent des causes majeures de mort subite et d'insuffisance cardiaque du sujet jeune. Près de 15 000 patients passent chaque année par les centres de référence et de compétence de la filière Cardiogen.

Les missions de cette filière s'articulent autour d'actions de coordination et de communication, de recherche et d'enseignement. Afin d'améliorer la prise en charge globale des personnes malades, la filière souhaite favoriser la coordination de l'expertise pluridisciplinaire.

Les actions sont regroupées au sein de 4 axes de travail : 1- information et communication, dont le projet prioritaire en 2015 était la création d'un site internet, véritable plateforme d'information à destination des patients et des professionnels de santé ; 2- enseignement et rédaction de recommandations, avec l'élaboration, en 2015, de cinq brochures synthétiques de prise en charge (PNDS « allégés ») qui ont pour but de diffuser les bonnes pratiques de prise en charge des maladies cardiaques héréditaires auprès des cardiologues et autres soignants ; 3- prise en charge médicale des patients et familles, avec, entre autre, la mise en place à l'été 2015 du Centre de Ressources Psychologiques afin d'œuvrer à l'égalité d'accès à une consultation psychologique sur l'ensemble du territoire mais aussi avec un travail, réalisé en début d'année, sur l'organisation de l'offre diagnostique et des prescriptions des tests génétiques afin d'harmoniser les pratiques entre les différents laboratoires de diagnostic génétique ; recherche clinique et bases de données, dont la priorité est l'implémentation et l'interopérabilité des bases de données existantes afin de faire émerger des projets de recherche collaboratifs pertinents.

Pour plus d'information, [www.filiere-cardiogen.fr](http://www.filiere-cardiogen.fr) / [contact@filiere-cardiogen.fr](mailto:contact@filiere-cardiogen.fr)

**#3423 : Description de 3 patients présentant un phénotype « Taybi-Linder-like » sans mutation dans le gène RNU4ATAC**

**Auteurs :**

Audrey Putoux (1), Alicia Besson (2), Sylvie Mazoyer (3), Eudeline Alix (4), Nicolas Chassaing (5), Nicola Brunetti-Pierri (6), Esther Zuazo Zamalloa (7), Audrey Labalme (4), Jessica Michel (4), Gaëtan Lesca (1), Damien Sanlaville (1), Patrick Ederly (1)

1. Service de Génétique et Centre de Recherche en Neurosciences de Lyon, INSERM U1028, CNRS UMR 5292, équipe GENDEV, Hospices Civils de Lyon et Université Claude-Bernard Lyon 1, Lyon - Bron, France
2. Centre de Recherche en Neurosciences de Lyon, INSERM U1028, CNRS UMR 5292, équipe GENDEV, Université Claude-Bernard Lyon 1, Lyon - Bron, France
3. Centre de Recherche en Cancérologie de Lyon, Equipe « Génétique du cancer du sein », CNRS UMR5286 et Inserm U1052, Université Lyon 1, Centre Léon Bérard, Lyon - Bron, France
4. Service de Génétique, Hospices Civils de Lyon, Lyon - Bron, France
5. Service de Génétique Médicale, Hôpital Purpan, CHU et Université Toulouse III, EA-4555, Toulouse, France
6. Department of Translational Medicine, Federico II University, Naples, Italie
7. Servicio de Pediatría, Hospital Zumarraga, Gipuzkoa, Espagne

**Mots clefs :** Taybi-Linder, nanisme microcéphalique, RNU4ATAC, TALS-like

**Résumé :**

Le syndrome de Taybi-Linder (TALS, OMIM 210710) est un syndrome polymalformatif de transmission autosomique récessive appartenant au groupe des nanismes microcéphaliques. Il se caractérise par l'association d'une petite taille et d'une microcéphalie avec des paramètres inférieurs à -4 déviations standards (DS), d'anomalies osseuses (retard d'ossification, membres et extrémités courtes, incurvation des fémurs, métaphyses larges, horizontalisation du toit de l'acetabulum, platyspondylie), d'une arthrogrypose, d'anomalies de la peau et des phanères (cheveux et sourcils épars, xérose cutanée, eczéma), d'anomalies cérébrales au premier rang desquelles une agénésie du corps calleux et des anomalies de gyration, et d'autres signes moins fréquents (anomalies dentaires, cardiaques...). En 2011, notre équipe a identifié en même temps que l'équipe d'He des mutations homozygotes ou hétérozygotes composites du gène *RNU4ATAC* chez des patients porteurs de ce syndrome. U4atac est un petit ARN non codant qui forme un complexe avec U6atac. Ce complexe a un rôle central dans le spliceosome mineur, qui est impliqué dans l'épissage d'un sous-groupe d'introns présents dans environ 700 gènes appelés introns U12. A ce jour, une quarantaine de patients porteurs de mutations homozygotes ou hétérozygotes composites de *RNU4ATAC* sont rapportées dans la littérature.

Nous rapportons ici le phénotype de 3 patients de familles différentes, dont deux issus d'une union entre apparentés, qui présentent un tableau clinique évocateur de TALS. Tous ont une petite taille inférieure à -4 DS, une microcéphalie avec périmètre crânien inférieur à -6 DS, une dysmorphie faciale compatible, des anomalies du corps calleux et une gyration anormale. Deux d'entre eux présentent des anomalies ostéo-articulaires observées dans le TALS (retard d'ossification, arthrogrypose), l'un d'entre eux présente un eczéma et deux ont des cheveux épars. Enfin, deux d'entre eux sont décédés prématurément (l'un à quelques heures de vie et l'autre avant l'âge de 6 mois). Le séquençage direct des gènes *RNU4ATAC* et *RNU6ATAC* par la méthode de Sanger n'a pas permis d'identifier de mutation chez ces patients.

L'association d'une petite taille avec microcéphalie sévère et de malformations cérébrales incluant des anomalies du corps calleux et des anomalies de la gyration sont compatibles avec le diagnostic de TALS, en particulier si le tableau clinique comprend les autres signes précédemment décrits. Les patients rapportés ici ont un phénotype « TALS-like », sans mutation identifiée dans le seul gène connu comme responsable de ce syndrome. Des analyses par séquençage à haut-débit permettront peut-être d'identifier de nouveaux gènes et de mieux comprendre les voies moléculaires impliquées dans ces formes très sévères de nanismes microcéphaliques.

#3427 : Mandibular dysostosis without microphthalmia caused by OTX2 deletion

**Auteurs :**

Xénia Latypova (1), Alice Bleriot (2), Olivier Pichon (1), Damien Poulain (1), Annaïg Briand (1), Cédric Le Caignec (1), Bertrand Isidor (1)

1. Service de Génétique Médicale, CHU de Nantes, Nantes, France
2. Service d'Ophtalmologie, CHU de Nantes, Nantes, France

**Mots clefs :** Mandibular dysostosis, dysgnathia, OTX2 haploinsufficiency

**Résumé :**

Dysgnathia complex is a severe developmental disorder including mandibular hypoplasia or aplasia and additional craniofacial features. To date, mutations in two genes, *OTX2* and *PRRX1*, have been identified in patients with dysgnathia associated with otocephaly. The *OTX2* gene, orthodenticle homeobox 2, is a key actor of craniofacial and sensory organ development. Animal models confirmed the involvement of *OTX2* in pharyngeal arch formation and its disruption leads to major craniofacial malformations. However, the common *OTX2*-related phenotype in human pathology consists in anophthalmia/microphthalmia with variable severity. We report for the first time a patient with a mandibular dysostosis caused by a 120 kb deletion including the entire coding sequence of *OTX2* identified by array CGH. No ocular anomalies were identified after extended ophthalmologic examination. Our data refine the clinical spectrum associated with *OTX2* mutation and suggests that *OTX2* haploinsufficiency should be considered as a possible cause for isolated mandibular dysostosis.

**#3437 : Gène FOXP1 : Encéphalopathie liée à une mutation faux-sens chez deux enfants d'une même fratrie et une délétion intragénique chez un adulte.**

**Auteurs :**

Louis DUFOUR (1), Pauline MARZIN (1), Cyril MIGNOT (2), Marie-Laure MOUTARD (3), Aurélia JACQUETTE (1), Michel LEMOINE (4), Amélie PITON (5), Bénédicte GERARD (6), Delphine HERON (1)

1. Département de Génétique, APHP, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, PARIS, France
2. Département de Génétique, APHP, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, Paris, France
3. Service de Neuropédiatrie, Hôpital Armand Trousseau, Paris, APHP, PARIS, France
4. Unité de rééducation polyvalente, Hopital necker Enfants malades, APHP, PARIS, PARIS, France
5. Laboratoire de Diagnostic Génétique, CHRU de Strasbourg, Strasbourg, France
6. Laboratoire de Diagnostic Génétique, CHRU de Strasbourg, STARSBOURG, France

**Mots clefs :** FOXP1; encéphalopathie; déficience intellectuelle; séquençage haut débit

**Résumé :**

Dix patients non apparentés avec une anomalie de novo du gène *FOXP1* ont été décrits, cinq patients avec une délétion du gène entier ou une translocation interrompant le gène, trois avec une délétion intragénique et deux avec une mutation ponctuelle. Le phénotype comprend une déficience intellectuelle (DI) plus marquée sur le langage et une dysmorphie caractéristique. Nous rapportons une nouvelle mutation ponctuelle de *FOXP1* dans une fratrie et une petite délétion chez un adulte.

L'aînée de la fratrie âgée de 15 ans a fait des acquisitions avec retard (marche à 4,5 ans, premiers mots à 3 ans) ; elle a une DI modérée avec des traits autistiques, une macrocéphalie à +3 DS, (PC du père +3 DS, de la mère moyenne), une dysmorphie faciale.

Son frère âgé de 8 ans a présenté en période prénatale une dilatation bilatérale des ventricules cérébraux, puis est né prématurément à 31+5 SA avec une arthrogrypose distale. Il a un retard global du développement ayant évolué vers une DI sévère avec des traits autistiques. L'examen retrouve un PC évoluant sur +2 DS, une hypertonie spastique des membres avec une hypotonie axiale (peut-être liée à la prématurité), un strabisme, une plagiocéphalie postérieure et une dysmorphie similaire à celle de sa sœur.

L'étude de l'ADN en trio de l'aînée et de ses parents sur un panel de 275 gènes responsables de DI a mis en évidence chez la fille la mutation hétérozygote c.1538G > A (p.Arg513His) dans le gène *FOXP1* survenue apparemment de novo, également retrouvée également chez son frère.

Le patient adulte a eu des difficultés d'alimentation dans la période néonatale puis un retard des acquisitions (marche à 2 ans et premiers mots à 4 ans) et une DI modérée. L'examen à 40 ans retrouve un front large, une macrocéphalie à +3,5 DS, une camptodactylie de tous les doigts et des stéréotypies.

L'étude de son ADN sur le panel TruSight1 a mis en évidence une délétion de 7 pb de novo entraînant un frameshift.

Le phénotype de nos patients est en accord avec la littérature dans laquelle on retrouve des traits autistiques chez 3/10 enfants et une dysmorphie compatible. La macrocéphalie est rare : 1/6 patients mais présente chez deux des nôtres. Nous rapportons pour la première fois des rétractions articulaires des extrémités.

La mutation p.Arg513His est la première mutation faux-sens de *FOXP1*. Les arguments pour sa pathogénicité sont : mutation chez deux individus atteints d'une même fratrie, prédiction délétère par différents algorithmes, absence des bases de données de sujets contrôle, affecte le domaine de fixation à l'ADN de ce facteur de transcription. Il s'agit du premier cas de récurrence de cette encéphalopathie dans une fratrie. Un des parents est probablement porteur de la mutation en mosaïque, non identifiable dans le sang avec la technique utilisée

#3440 : A *de novo* mutation in the *ARID1B* gene in a patient with variant/type B Coffin-Siris syndrome, *ARID1B* gene

**Auteurs :**

Thierry BIENVENU (1), Géraldine VIOT (2), Karine POIRIER (3), Nicolas LEBRUN (3), Pierre BILLUART (3), JAUNY Clémence (2)

1. Laboratoire de Biochimie et Génétique Moléculaire, Hôpital Cochin, PARIS, France
2. Génétique médicale, Maternité Port Royal - Hôpital Cochin, PARIS, France
3. U1016, Inserm, PARIS, France

**Mots clefs :** Whole-exome sequencing, Coffin-Siris syndrome, new clinical features, novel mutation, intellectual disability, frameshift mutation

**Résumé :**

**A *de novo* mutation in the *ARID1B* gene in a patient with variant/type B Coffin-Siris syndrome**  
Géraldine Viot,<sup>1</sup> Karine Poirier<sup>2,3</sup>, Nicolas Lebrun<sup>2,3</sup>, Clémence Jauny<sup>1</sup>, Pierre Billuart,<sup>2,3</sup> and Thierry Bienvenu<sup>2,3,4</sup>

<sup>1</sup> Unité de Génétique, Maternité Port-Royal, Hôpital Cochin, Paris, France

<sup>2</sup> Inserm, U1016, Paris, France

<sup>3</sup> Institut Cochin, Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, CNRS (UMR 8104), Paris, France

<sup>4</sup> Laboratoire de Biochimie et Génétique Moléculaire, Hôpital Cochin, Assistance Publique – Hôpitaux de Paris, Paris, France

Nicolaides-Baraitser syndrome and Coffin-Siris (CSS) syndrome are conditions with overlapping clinical characteristics. Since 2012, mutations in genes encoding six proteins of the BAF complex were identified in both conditions. One of these genes is the *ARID1B* gene. In addition, *de novo* variants in *ARID1B* have been identified in patients with moderate to severe intellectual disability (ID) without a recognizable phenotype. We report a novel frameshift mutation identified by whole-exome sequencing in a patient with the minimal criteria needed for the clinical diagnosis of CSS. We identified a heterozygous frameshift mutation c.5022dup in exon 20 (NM\_017519.2) predicting a premature stop codon p. (Arg1675 \*). Sanger sequencing confirmed the mutation as a *de novo* in the patient.

The patient presented with hirsutism/hypertrichosis with excessive hair, hair growth in atypical areas, long eyelashes, and bushy eyebrows, macrocephaly (+3 SD), tall stature, muscular hypotonia, dysmorphic features associating coarse face, open and wide mouth, full lips, deep philtrum, broad alveolar bridges, protruding tongue, dysplastic ears with thick lobules, bulbous nose, epicanthus. Moderate ID with delayed motor milestones and expressive language was also noted. Brain MRI showed a partial and coarse corpus callosum. X-rays showed vertebral abnormalities and delayed bone age but no phalangeal changes. Biochemical, metabolic and chromosomal microarray analyses were normal.

So far, this patient demonstrated a variant/type B CSS without major signs of typical/type A CSS (i.e. failure to thrive, aplasia or hypoplasia of the distal phalanx or nail of the fifth digit and microcephaly). Our observation suggested that severe hirsutism, macrocephaly, high tall and coarse face may be added to the list of clinical features of *ARID1B* mutations.

**#3442 : Confirmation du phénotype «ataxie congénitale» lié à des mutations du gène CACNA1A par identification de 3 patients dans une cohorte de 144 patients étudiés par séquençage haut débit ciblé**

**Auteurs :**

Alexandra Afenjar (1), Maryline Carneiro (2), François Rivier (3), Florence Riant (4), christelle Rougeot-Jung (5), Lydie Burglen (6)

1. Service de neuropédiatrie et de génétique, Centre de référence des malformations et maladies congénitales du cervelet, Hôpital Trousseau, paris, France
2. Service de neuropédiatrie , hôpital Gui-de-Chauliac, Montpellier, France
3. service de neuropédiatrie , hôpital Gui-de-Chauliac, montpellier, France
4. Laboratoire de Génétique, Groupe hospitalier Lariboisière-Fernand Widal, Paris, France
5. Neuropediatric Department et Centre de référence des malformations et maladies congénitales du cervelet, Hôpital Femme-Mère-Enfant, Lyon, France
6. Centre de référence des malformations et maladies congénitales du cervelet, Trousseau, Paris, France

**Mots clefs :** ataxie congénitale, gène CACNA1A, cohorte

**Résumé :**

Des mutations dominantes du gène *CACNA1A* codant pour une sous unité du canal calcique transmembranaire neuronal de type P/Q ont été rapportées initialement dans 3 phénotypes distincts: les ataxies épisodiques de type 2(EA2), les migraines hémiplégiques familiales de type 1(FHM1) et les ataxies spinocérébelleuses de type 6(SCA6). Secondairement l'identification d'une mutation chez un patient avec ataxie congénitale nous a conduits à inclure *CACNA1A* dans un panel élaboré pour étudier par séquençage haut débit ciblé une cohorte de 144 patients avec ataxie congénitale. Ce travail nous a permis d'identifier des mutations chez 3 nouveaux cas index. Les 3 patients sont issus de parents non apparentés et ont présenté après une période néonatale normale un retard de développement avec une marche acquise à 30, 33 mois et 8 ans, un retard de langage et une déficience intellectuelle de légère à modérée. Les 3 patients présentent un syndrome cérébelleux et des progrès réguliers. L'IRMc (à 2, 4 et 7 ans) montre une atrophie cérébelleuse (vermis 2/3 et globale 1/3). Le patient 1 est porteur à l'état hétérozygote d'une mutation faux- sens connue déjà décrite au sein de familles avec FHM1. Son frère présente le même phénotype et son oncle et son grand-père paternel des migraines hémiplégiques. Ces 3 patients n'ont pas encore été testés. Chez le patient 2 une mutation non encore décrite responsable d'un codon stop a été identifiée à l'état hétérozygote. Sa mère dont l'analyse est en cours présente également une ataxie congénitale. Le 3ème patient est porteur d'une mutation faux-sens homozygote. Les parents asymptomatiques sont hétérozygotes pour cette mutation. Aucun patient rapporté dans la littérature n'est porteur d'une mutation homozygote de *CACNA1A*. Cette mutation n'a jamais été rapportée mais touche un acide aminé très conservé et est prédite comme probablement pathogène. L'absence de symptômes chez les parents pourrait être expliquée par un effet moins délétère de cette mutation sur la fonction du canal. Les parents encore jeunes pourraient également présenter plus tard des symptômes du « spectre CACNA1A ». Néanmoins la pathogénicité de cette mutation ne peut être totalement affirmée en l'absence d'études fonctionnelles non réalisées à ce jour ou de récurrence de cette mutation chez d'autres patients. Le gène *CACNA1A* initialement décrit comme responsable de 3 phénotypes distincts: EA2, FHM1 et SCA6 s'avère être également responsable d'ataxie congénitale et parfois de coexistence chez un même patient ou au sein d'une même famille d'un ou plusieurs des phénotypes précédents. Notre travail confirme l'intérêt de tester ce gène chez les patients présentant une ataxie congénitale, en particulier si d'autres phénotypes évocateurs sont observés dans la famille. Nous avons identifié 2 % de mutation *CACNA1A* au sein de notre cohorte d'ataxie congénitale ce qui reste limité mais non négligeable pour une pathologie génétiquement très hétérogène sans gène majoritaire.

#3443 : Prévention des malformations par fortification par les folates en Europe. Quelle égalité des chances pour les fœtus ?

**Auteurs :**

Hubert JOURNEL (1), Sylvie ODENT (2), Vanessa COLOMBERT (1), Andrea MANUNTA (3)

1. Unité de Génétique Médicale, CHBA, VANNES, France
2. Unité de Génétique Médicale CLAD Ouest, CHU Rennes, RENNES, France
3. CMR Spina Bifida, CHU Rennes, RENNES, France

**Mots clefs :** Spina-Bifida, Malformation tube neural, acide folique, vitamine B9, prévention, santé publique

**Résumé :**

**Intro :** La prévention des Malformations (particulièrement les Malformations du tube neural) par les folates a montré son efficacité en réduisant de moitié le risque dans les pays où la fortification des farines est mise en œuvre. Le recul est de 20 ans aux USA.

Les politiques européennes ont toutes refusé jusqu'à présent ce programme en préférant le « libre-choix » des femmes et le concept de soins préconceptionnel, sans aucun moyen afférent. Les incidences n'ont pas chuté comme attendu (Rapports Eurocat, 2009-2013).

**Objet :** Cet échec doit permettre de lister les conditions de réussite de la prévention, par le concept simple d'égalité des chances pour les fœtus. N'ayant que peu progressé sur les causes génétiques des MTN et sur le mécanisme même de la prévention au niveau fœtal, nous revenons sur : 1) la difficulté de la prévention avec libre choix – Environ 15% en France (plusieurs études) et probablement moins de 10% bien menées – Campagnes rares – information des femmes jeunes inexistante. 2) la facilité des préventions par enrichissement des farines – confirmation des calculs des doses nécessaires, réajustements éventuels – mesure d'impact sur l'incidence et sur les coûts de santé, absence d'effet indésirable à long terme.

**Conclusion :** la balance bénéfice-risque est en faveur de la prévention par enrichissement en folates des farines.

**#3444 : Fetal valproate syndrome: variabilité du phénotype et leçons du passé**

**Auteurs :**

Hubert JOURNEL (1), Vanessa COLOMBERT (1), Andrea MANUNTA (2), Sylvie ODENT (3)

1. Unité de Génétique Médicale, CHBA, VANNES, France
2. CMR Spina Bifida, CHU Rennes, RENNES, France
3. Unité de Génétique Médicale CLAD Ouest, CHU Rennes, RENNES, France

**Mots clefs :** Foetopathie au Valproate, Spina-Bifida, Autisme, Déficience intellectuelle, santé publique

**Résumé :**

Lorsqu'en 1982 et 1984, l'équipe du Dr E. Robert (Registre des malformations – Lyon) identifie le risque tératogène du valproate (VPA) en lien avec le spina-bifida, elle ne retrouve que des interrogations éparses à partir d'observations rares sur ce sujet. Suivront la description du phénotype dysmorphologique, la découverte des risques de déficience intellectuelle et l'autisme. Ce sont les registres des malformations ou la description de séries de patients qui identifieront l'augmentation de risques malformatifs comme la craniosténose et l'hypospadias. Il faudra plus de 20 ans pour que les recommandations d'information et de substitution thérapeutique des traitements de l'épilepsie maternelle soient réalisées et suivies d'effet.

De nombreuses causes peuvent être retenues pour expliquer cette défaillance dans la prévention en santé publique: ces causes sont cliniques, organisationnelles et structurelles :

Causes cliniques : (1) rareté des observations sévères, (2) grande variabilité des formes et du degré de sévérité des déficiences et autismes observés, (3) phénotype reconnaissable mais pas assez « anormal », (4) la plupart des enfants a un phénotype subnormal avec troubles des apprentissages.

Causes organisationnelles (5) lenteur de la diffusion des informations (ie absence d'internet, d'informatique et de réseaux à l'époque), (6) multiplicité d'intervenants pas toujours en lien (pédiatres, chirurgiens, généticiens, obstétriciens, neurologues, psychiatres), (7) rares recours auprès de généticiens et neuropédiatres peu nombreux de l'époque, (8) non suivi des femmes épileptiques enceintes.

Causes structurelles liées à la santé publique et aux publications (9) défaut de déclaration en tératovigilance (10) défaut de partenariat avec le laboratoire sur ce point, (11) absence de suivi de cohortes à risques, (12) peu de publications de cohortes, (13) impossibilité de publier des associations de cas, (14) absence de registre des déficiences intellectuelles.

Pour simplifier la prise en charge des enfants et adultes atteints, il faut retenir

- que tout individu né de mère prenant du VPA au cours de sa grossesse et présentant des anomalies cliniques, morphologiques ou psycho-comportementales même modérées est atteint de FVS jusqu'à preuve du contraire
- qu'un parcours adapté et facilitant peut permettre à la majorité de ces personnes une intégration satisfaisante en terme d'autonomie et de vie adulte.
- Que l'accompagnement doit se faire avec les moyens humains et le respect dû aux victimes du manque de connaissances sur le sujet

Quelques propositions sont faites pour anticiper et éviter ce type de drame dans l'avenir.

**#3446 : Implication du gène *WDR81* dans la microcéphalie et microlissencephalie: expansion du spectre phénotypique.**

**Auteurs :**

Mara Cavallin (1), Vincent Cantagrel (2), Sandrine Passemard (3), Severine Drunat (3), Antoinette Gelot (3), Karine Poirier (3), Alain Verloes (3), Jelena Martinovic (4), Laurent Bidat (5), Marlène Rio (6), Nathalie Boddaert (7), Daniel Medina-Cano (2), Laurence Colleaux (2), Mélanie Jenneson-Lyver (8), Nathalie Bednarek (8), Clémence Fleury (9), Martine Doco-Fenzy (10), Sophie Thomas (1), Nadia Bahi-Buisson (1)

1. Laboratory of Embryology and Genetics of Congenital Malformations INSERM UMR-1163, Imagine Institute, Paris, France
2. INSERM UMR1163, Université Paris Descartes, Imagine Institute, Paris, France
3. Génétique Moléculaire Département de Génétique, INSERM U1141, Hôpital Robert Debré, Paris, France
4. Unit of Fetal Pathology, Hospital Antoine Bécélère, Clamart, France
5. Centre de Diagnostic Prenatal, CH de Pontoise, Pontoise, France
6. Génétique Moléculaire Département de Génétique, Hôpital Necker Enfants malades, Paris, France
7. Radiologie Pédiatrique, Université Paris Descartes, Hôpital Necker Enfants malades, Paris, France
8. Neurologie Pédiatrique médecine néonatale et de réanimation pédiatrique , POLE FEMME PARENTS ENFANT, CHU de Reims, Reims, France
9. Service de Génétique et Biologie de la Reproduction, CHU de Reims, Reims, France
10. Service de Génétique et Biologie de la Reproduction, CHU de Reims, Paris, France

**Mots clefs :** *WDR81*, hétérozygote composite, microcephalie, microlissencephalie

**Résumé :**

La Microlissencéphalie (MLIS) est une malformation cérébrale (MCD) rare qui associe une microcéphalie congénitale (MIC) à une lissencéphalie. Les mécanismes moléculaires sont mal connus mais des données récentes suggèrent que les MLIS et MIC font partie d'un spectre de MCD commun.

Patients et méthodes: Dans le cadre de notre programme de diagnostic et recherche sur les MCD, nous avons procédé un séquençage de l'exome en trio dans une population de patients/foetus MIC et MLIS inexplicés.

Résultats : Huit mutations hétérozygotes composites dans *WDR81*, hérités sur un mode autosomique récessive ont été identifiées dans 3 cas sporadiques, deux enfants et un foetus, et une famille comportant un enfant et 2 foetus jumeaux atteints

Le phénotype observé comporte, une MLIS sans atteinte de la fosse postérieure (4 cas), une MLIS avec hypoplasie cérébelleuse (1 cas) et une MIC avec une atrophie cerebelleuse (1 cas). Les 3 enfants de la même famille ont un phénotype MLIS comparable.

*WDR81* code pour une protéine transmembranaire qui comporte un domaine WD40 en C-terminal. Les mutations observées, sont de type faux sens, stop et frameshift, sont localisées dans les différents domaines de la protéine. L'étude du transcrit sur fibroblastes d'un patient porteur d'une mutation stop/faux sens montre une diminution de la quantité du transcrit.

L'étude du déroulement de la mitose en immunocytochimie montre une augmentation de l'index mitotique dans les fibroblastes des patients sans anomalie morphologique du centrosome et du fuseau mitotique. Les résultats préliminaires suggèrent qu'il s'agit d'une augmentation de la prometaphase et metaphase.

Conclusion: Ce travail permet d'élargir le spectre phénotypique des mutations *WDR81* précédemment impliquées dans le CAMQ2 aux MIC/MLIS et suggère que le phénotype observé est en lien avec un défaut de prolifération des progéniteurs. Des études d'inactivation du gene en RNAi dans le lobe optique de la drosophile sont en cours afin de déterminer la population de progéniteurs neuronaux la plus impactée.

**#3468 : Dysplasie dentato-olivaire et encéphalopathie épileptique liée à des mutations de SCN2A: intérêt de l'examen neuropathologique**

**Auteurs :**

Sébastien Moutton (1), Fanny Sauvestre (2), Catherine Badens (3), Bernard Broussin (4), Dominique Carles (5), Nada Houcinat (1), Caroline Lacoste (3), Christophe Pecheux (3), Laurent Villard (3), Fanny Pelluard (2), Annie Laquerrière (6), Gwenaelle Andre (2)

1. Service de génétique médicale, Hôpital Pellegrin, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France
2. Unité de Pathologie Fœtoplacentaire, Hôpital Pellegrin, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France
3. Département de génétique médicale, Hôpital de la Timone, CHU de Marseille, Marseille, France
4. Cabinet de Radiologie, 120 bis rue Georges Bonnac, 33000 Bordeaux, Bordeaux, France
5. Unité de Pathologie Fœtoplacentaire, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France
6. Laboratoire d'anatomie et cytologie pathologiques, Hôpital Charles Nicolle, CHU Rouen, Rouen, France

**Mots clefs :** dysplasie dentato-olivaire; encéphalopathie épileptique précoce; crises convulsives in utero; syndrome d'Ohtahara ; SCN2A; NGS; panel; foetopathologie; neuropathologie.

**Résumé :**

Nous rapportons le cas clinique d'un fœtus ayant présenté des crises convulsives in utero dans un contexte malformatif (détection à l'échographie de 32 SA d'une ventriculomégalie, de malpositions des membres et d'un hydramnios). Une interruption médicale de grossesse a été demandée par le couple. L'examen foetopathologique à 34 SA a montré qu'il s'agissait d'un fœtus féminin eutrophe présentant une séquence d'akinésie foetale associée à une dysplasie dentato-olivaire (DDO), une malformation très rare du système nerveux central dont la fréquence associée à l'épilepsie précoce est probablement sous-estimée car seul l'examen anatomopathologique permet de la diagnostiquer. Très peu de cas ont été décrits, tous après la naissance chez des enfants décédés des complications de leur encéphalopathie. Le séquençage d'un panel de gènes dédié au diagnostic des encéphalopathies épileptiques précoces a permis de mettre en évidence une nouvelle mutation faux-sens du gène *SCN2A* à l'état hétérozygote. Ce gène a déjà été impliqué dans diverses formes de syndromes épileptiques y compris des encéphalopathies épileptiques précoces comme le syndrome d'Ohtahara et a été associé à une DDO seulement une fois dans la littérature. Les mutations du gène *SCN2A* sont probablement responsables de DDO qui pourrait donc être impliquée dans l'épilepsie. L'examen neuropathologique post-mortem et l'analyse de panels de gènes dédiés à l'épilepsie sont donc d'une grande utilité pour améliorer les connaissances à la fois sur le plan des corrélations génotype-phénotype mais aussi dans la physiopathologie de l'épileptogénèse.

**#3474 : Polymicrogyrie foetale : étude retrospective de 37 cas.**

**Auteurs :**

Yuri Musizzano (1), Marie Josée Perez (2), Nicole Bigi (2), Christine Coubes (2), Lucile Pinson (3), David Gèneviève (3), Pierre Sarda (3), Caroline Rouleau (4), Annie Laquerrière (5), Sylviane Doutre (1), Olivier Prodhomme (6), Alain Couture (6), Férehté Razavi (7)

1. Département de Biopathologie cellulaire et tissulaire des tumeurs - Equipe médicale Anatomie et Cytologie pathologiques, CHRU Montpellier, Montpellier, France
2. Département de Génétique Médicale, Equipe Médicale de Génétique prénatale et de Foetopathologie, CHRU Montpellier, Montpellier, France
3. Service de Génétique Médicale, Centre de référence Sud anomalies du développement et syndromes malformatifs, CHRU Montpellier, Montpellier, France
4. Centre de Pathologie Dianapath, Dianapath Aurigen, Genève, Suisse
5. Service d'Anatomie Pathologique, CHU Hôpitaux de Rouen, Rouen, France
6. Département d'Imagerie pédiatrique, CHRU Montpellier, Montpellier, France
7. Unité d'Histologie-Embryologie-Cytogénétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France

**Mots clefs :** polymicrogyrie, neuropathologie, foetopathologie, malformations corticales, séquençage

**Résumé :**

Introduction : Le diagnostic de polymicrogyrie (PMG), l'une des plus communes malformations corticales, est compliqué par une extrême hétérogénéité étiologique, morphologique et clinique. La définition de PMG étant purement histologique, l'étude neuropathologique demeure fondamentale pour confirmer et préciser le diagnostic; toutefois, peu d'études neuropathologiques complètes sur des groupes homogènes ont été publiées jusqu'à présent. Nous avons entrepris une étude rétrospective sur une série d'autopsies fœtales comportant un examen neuropathologique complet. Matériels et méthodes : Tous les examens neuropathologiques fœtaux réalisés entre janvier 2002 et juin 2013 ont été ressortis afin de sélectionner les cas avec description d'une PMG. Une relecture des photos et des lames a été effectuée, dans le but de confirmer la malformation et d'en préciser les caractéristiques topographiques et histologiques, en particulier les autres anomalies cérébrales associées. Les dossiers complets ont été réexaminés et des corrélations anatomo-cliniques ont été établies, afin d'identifier l'étiologie et de permettre la constitution de groupes homogènes. Résultats : Nous avons extrait une série de 37 cas avec PMG à un terme compris entre 20 et 37 SA, provenant de 897 examens neuropathologiques complets. Chez 16 fœtus, nous avons identifié des pathologies vasculaires et/ou infectieuses ; dans 6 autres cas la PMG représentait un signe secondaire dans le cadre de syndromes connus. Chez 15 autres fœtus la malformation corticale était prédominante, sans étiologie retrouvée à l'examen foetopathologique. L'analyse de ce groupe a permis de définir 4 sous-types selon la répartition des lésions (PMG frontale, frontopariétale, péricoronaire et généralisée), chacun présentant des caractéristiques particulières sur le plan histologique et des lésions associées, cérébrales et/ou extracérébrales. L'étude moléculaire n'a pas retrouvé de mutation des principaux gènes responsables de PMG. Dans un cas, la présence d'une mutation de L1CAM a confirmé un syndrome de Bickers-Adams; dans deux autres cas, il s'agissait d'une PMG péricoronaire bilatérale à transmission récessive liée à l'X. Pour le moment, aucune autre étiologie génétique n'a été identifiée. A l'histologie, la répartition des populations neuronales était normale dans tous les cas, en faveur d'une origine post-migratoire de la PMG, et les patterns lésionnels à 2, 4 et 6 couches usuels étaient variablement associés. Conclusion : Notre étude rétrospective d'une série de 37 fœtus nous a permis de confirmer l'origine post-migratoire de la PMG. De plus, elle nous a permis de corréler la PMG avec un trouble de perfusion cérébrale dans 22 cas. Dans 15 cas, la PMG est restée inexplicée. Dans ce groupe, l'analyse de la répartition de la PMG a permis l'identification de 4 types morphologiques. La distinction de groupes homogènes de PMG pourrait orienter les recherches étiopathogéniques et l'identification de gènes responsables.

**#3475 : Mutation du gène ARX chez une patiente avec déficience intellectuelle, épilepsie sévère, traits autistiques et agénésie du corps calleux.**

**Auteurs :**

Perrine Charles (1)

1. Département de génétique, Hôpital de la Salpêtrière, Paris, France

**Mots clefs :** ARX, déficience intellectuelle, épilepsie, traits autistiques, agénésie du corps calleux.

**Résumé :**

Mutation du gène ARX chez une patiente avec déficience intellectuelle, épilepsie sévère, traits autistiques et agénésie du corps calleux.

Aurélia Jacquette, Isabelle An, Isabelle Marey, Caroline Nava, Boris Keren, Tania Attié, Delphine Héron, Perrine Charles.

Les mutations du gène ARX sont responsables de différents phénotypes cliniques parmi lesquels des encéphalopathies épileptiques précoces, des lissencéphalies liées à l'X avec anomalies génitales, le syndrome de Partington... Ces différents phénotypes ont été décrits chez les garçons et un phénotype clinique plus modéré a été décrit chez des femmes porteuses hétérozygotes qui peuvent présenter des difficultés d'apprentissage, des troubles psychiatriques à type d'anxiété, de dépression voire des troubles psychotiques (Eksioglu et al, 2011).

Nous rapportons le cas d'une patiente âgée de 25 ans suivie pour un phénotype clinique associant : une déficience intellectuelle avec retard des acquisitions, des traits autistiques avec des troubles du caractère et du comportement, une épilepsie précoce (convulsions hyperthermiques à l'âge de un an), sévère avec survenue d'états de mal épileptiques, difficile à équilibrer, des particularités morphologiques, une dystrophie ovarienne et une agénésie du corps calleux à l'IRM cérébrale.

La patiente a été incluse dans un projet de recherche consistant en l'identification des gènes responsables des agénésies du corps calleux et une mutation stop dans le gène ARX a été mise en évidence (ARX c.1111C > T/R371). Des analyses des parents sont en cours pour confirmer le caractère de novo ou non de cette mutation de même que la recherche d'un biais d'inactivation de l'X.

Ces résultats pourraient modifier le conseil génétique dans cette affection liée à l'X.

**Auteurs :**

Adnane Karkar (1), Houda Fettah (2), Imen Dorboz (3), Abdelhamid Barakat (4), Simon Samaan (5), Florence Renaldo (6), Monique Elmaleh (7), Sellama Nadifi (8), Odile Boespflug-Tanguy (6)

1. Laboratoire de génétique et pathologie moléculaire, Université Paris Diderot - Université Hassan II, Paris, France
2. Service de Neuropédiatrie, CHU-IBN ROCHD, Casablanca, Maroc
3. Inserm U1141, , Paris, France
4. Laboratoire de Génétique Moléculaire Humaine, Institut Pasteur du Maroc, Casablanca, Maroc
5. Département de Génétique, Hôpital Robert Debré, Paris, France
6. Service de Neuropédiatrie, Hôpital Robert Debré, Paris, France
7. Radiologie Pédiatrique, Hôpital Robert Debré, Paris, France
8. Laboratoire de génétique et pathologie moléculaire, Université Hassan II, Casablanca, Maroc

**Mots clefs :** leucodystrophie, séquençage, mutation, maroc

**Résumé :**

La population marocaine connaît un taux de consanguinité important (29 à 33% des mariages). Ceci augmente le risque de maladies autosomiques récessives individuellement rares telles que les leucodystrophies (LDs), qui affectent la substance blanche du système nerveux central. Nous avons mis en place un travail collaboratif afin de mieux appréhender le profil clinique et moléculaire de ces pathologies au Maroc pour en favoriser le diagnostic (LEUKOMAROC, INSERM). Nous rapportons les résultats d'une année d'étude. Quatorze patients atteints de LDs ont été sélectionnés en fonction des données cliniques et IRM. Le phénotype clinico-IRM a permis d'orienter l'analyse moléculaire. Un séquençage des régions codantes pour les gènes des LDs avec marqueurs biochimiques les plus fréquentes (AGTLC pour l'adrénoleucodystrophie liée à l'X (ALD) ou sulfatidurie pour la leucodystrophie métachromatique(MLD)) ont été effectuées, ces analyses biochimiques étant difficiles à obtenir au Maroc. Les patients suspects de LDs sans marqueur biochimique ont été analysés avec une puce « ciblée » NGS contenant les 26 gènes les plus fréquemment impliqués utilisée par le laboratoire de biologie moléculaire de l'Hôpital Robert Debré pour le diagnostic de routine. Grâce à cette stratégie nous avons pu identifier les mutations causales chez 10 patients dans 5 gènes différents : 4 patients MLD dans le gène *ARSA* dont une nouvelle mutation c.1270C>T (p.Arg273\*), 3 patients ALD dans le gène *ABCD1* dont une nouvelle mutation c.1677C>G (p.Tyr559\*), un cas de Pelizaeus-Merzbacher-like disease (PMLD) avec une nouvelle mutation c.739C>T (p.Arg247Cys) du gène *GJC2*, un cas de CACH (Childhood Ataxia with Central nervous system Hypomyelination) avec une mutation c.338G>A (p.Arg113His) du gène *EIF2B5* et finalement 2 patients avec Hypomyélinisation et Cataracte Congénitale (HCC) avec la même mutation IVS5+1 G>T du gène *FAM126A*. Ces résultats permettent de mettre en place une stratégie d'aide au diagnostic moléculaire des LDs au Maroc au sein du laboratoire de génétique de Casablanca en collaboration avec l'Institut Pasteur.

**#3486 : Identification d'une mutation homozygote dans le gène *PLXND1* chez une fratrie présentant tronc artériel commun, retour veineux pulmonaire anormal et prédisposition à la maladie de Hirschsprung et au neuroblastome**

**Auteurs :**

Chris GORDON (1), Anne GUIMIER (1), Cecile MULLER (1), Myriam Oufadem (1), Daphné Lehalle (1), Christine Bole-Feysot (1), Patrick Nitschké (1), Fanny Bajolle (2), Damien Bonnet (2), Patrice Bouvagnet (3), Stanislas Lyonnet (1), Loïc de Pontual (1), Jeanne Amiel (1)

1. Institut Imagine, Hopital Necker-Enfants Malades, Paris, France
2. Unité Médico-Chirurgicale de Cardiologie Congénitale et Pédiatrique, Hopital Necker-Enfants Malades, Paris, France
3. Laboratoire cardiogénétique, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

**Mots clefs :** *PLXND1*, tronc artériel commun, Hirschsprung, *SMAD6*, *TBX1*

**Résumé :**

Truncus arteriosus (TA) is a rare congenital heart defect caused by defective septation of the outflow tract, associated with significant morbidity and mortality. We performed exome sequencing in three families in which the probands presented with either isolated TA or TA in association with other anomalies. Firstly, we identified a homozygous missense mutation in the GAP domain of *PLXND1* in three consanguineous sibs presenting TA and abnormal pulmonary venous return, associated with Hirschsprung disease (HSCR) in two out of three cases and with neuroblastoma (NB) in one. Investigation in the only surviving member of the sibship revealed generalised vascular anomalies. In the second family, we identified a frameshift mutation in *SMAD6* in siblings with isolated TA, inherited from their normal father, while in the third family, a splice site mutation in *TBX1* was identified in a patient with TA and athymia but without typical craniofacial features of DiGeorge syndrome. The cardiac phenotypes in these patients are consistent with the known roles of *Plxnd1*, *Smad6* and *Tbx1* in development of the conotruncus in mouse models, although heterozygous loss of *SMAD6* in humans appears incompletely penetrant. Our results confirm *PLXND1* mutations as a cause of cardiovascular defects in humans, and HSCR and NB may be associated phenotypes due to disrupted plexin-semaphorin signalling during neural crest development.

**#3488 : Allèle nul détecté dans le cadre d'une recherche de paternité par empreinte génétique**

**Auteurs :**

Wiem Manoubi (1), Amira Mili (1), Ahlem Msakni (2), Rihab Ben Sghaier (2), Améni Gdissa (2), Ali Saad (2), Moez Gribaa (2)

1. Laboratoire de Cytogénétique, de Génétique Moléculaire et de la Biologie de la Reproduction Humaines,, CHU Farhat HACHED, Sousse, Tunisie, Sousse, Tunisie

2. Laboratoire de Cytogénétique, de Génétique Moléculaire et de la Biologie de la Reproduction Humaines,, CHU Farhat HACHED, Sousse, Tunisie, Sousse, France

**Mots clefs :** Allèle nul, Identification génétique, Marqueurs microsatellites

**Résumé :**

**Introduction:**

La recherche de paternité permet, dans le cadre de la médecine légale, d'établir la filiation entre un enfant et son père en recherchant si le père présumé est ou non le père biologique. De nos jours, cette recherche se base sur les empreintes génétiques utilisant principalement des marqueurs microsatellites. En effet, chaque individu reçoit la moitié de son patrimoine génétique de sa mère et l'autre moitié de son père biologiques. Ainsi, pour être le père, un individu doit partager avec l'enfant au moins un des deux allèles de chaque marqueur étudié. Des rares cas ont montré l'absence de l'un ou de l'autre d'allèle reçu de la mère ou du père secondaire à la présence d'un polymorphisme dans le site d'hybridation d'une amorce nécessaire à l'amplification d'un marqueur. Nous rapportons dans ce travail un cas d'allèle nul confirmé génétiquement dans le cadre de la recherche de paternité par empreinte génétique.

**Observation :**

Dans le cadre de la recherche de paternité, nous avons réalisé une étude génétique sur 3 individus : une mère, son nourrisson, ainsi qu'un père présumé. Cette étude a consisté en l'analyse de 15 marqueurs microsatellites par 2 kits commerciaux différents et par le séquenceur « ABI prism 310 » chez ces 3 individus.

**Résultats :**

Les analyses génétiques, par l'étude du premier kit, ont montré que le marqueur vWA a présenté une anomalie de transmission entre le nourrisson et sa mère en faveur d'un allèle nul. Cette hypothèse a été confirmée par l'étude du 2eme kit qui a permis de visualiser cet allèle et montré qu'il est transmis normalement à son nourrisson.

**Discussion et conclusion :**

Les kits utilisés dans le cadre de la recherche de paternité par empreinte génétique utilisent des amorces différentes dans l'amplification des marqueurs et la détection des allèles, qui tient plus ou moins compte des polymorphismes spécifiques à chaque population. Ainsi ces kits sont considérés comme complémentaires, et doivent être utilisés en concomitance dans les études d'identification par empreinte génétique.

**#3502 : Identification d'une nouvelle mutation du gène C2CD3 par séquençage d'exome dans une famille présentant un phénotype modéré de syndrome oro-facio-digital**

**Auteurs :**

Sophie Scheidecker (1), Mériam Koob (2), Megana Prasad (1), Yaumara Perdomo (3), Véronique Geoffroy (1), Corinne Stoetzel (1), Hélène Dollfus (4)

1. Laboratoire de Génétique Médicale, INSERM U1112, Institut de Génétique Médicale d'Alsace (IGMA), Université de Strasbourg, Strasbourg, France
2. Service de Radiopédiatrie/Imagerie 2, Laboratoire ICube, UMR 7357/FMTS/Université de Strasbourg-CNRS, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
3. Centre de référence national pour les Affections Rares en Génétique Ophtalmologique (CARGO), Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
4. Centre de référence national pour les Affections Rares en Génétique Ophtalmologique (CARGO), Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Laboratoire de Génétique Médicale, INSERM U1112, Institut de Génétique Médicale d'Alsace (IGMA), Université de Strasbourg, Strasbourg, France

**Mots clefs :** syndrome oro-facio-digital, séquençage d'exome, C2CD3

**Résumé :**

Le syndrome oro-facio-digital (OFD) est un groupe hétérogène de maladies génétiques responsable d'anomalies de la cavité buccale, d'une dysmorphie faciale et d'anomalies des extrémités. À ce jour, plus de 13 types de syndrome OFD ont été différenciés selon leur expression clinique et l'implication d'autres organes. Il existe un chevauchement phénotypique entre les différentes formes avec différents modes de transmission. Récemment, des mutations du gène *C2CD3* ont été décrites associées au syndrome OFD de transmission autosomique récessive chez un enfant présentant une microcéphalie sévère, un micropénis, une déficience intellectuelle sévère, une rétinopathie et des anomalies cérébrales, et un fœtus de sexe masculin présentant des anomalies orales, une polydactylie et des malformations cérébrales (Thauvin-Robinet, *et al.*, 2014). Nous rapportons une nouvelle mutation du gène *C2CD3* chez un frère et une sœur présentant un phénotype compatible avec un syndrome OFD.

Le propositus est le deuxième enfant de parents sains apparentés. A la naissance, elle a présenté une hypotonie, une microcéphalie et des anomalies buccales. Elle a eu des épisodes d'apnée dans les premiers jours de vie. Une rétinopathie, une légère ataxie et un décalage des acquisitions psychomotrices ont ensuite été notés. L'IRM cérébrale a montré des anomalies cérébelleuses associées à un défaut de la migration neuronale. Son frère cadet présente également une microcéphalie, une hypotonie, une rétinopathie, un retard psychomoteur et les mêmes anomalies cérébrales à l'IRM.

Nous avons réalisé un séquençage d'exome sur le trio propositus atteint et parents sains. Après filtrage des variants détectés dans l'exome, et dans l'hypothèse d'une transmission autosomique récessive, nous nous sommes focalisés sur un variant rare (c.4922T > C; p.Val1641Ala) du gène *C2CD3* retrouvé à l'état homozygote chez l'enfant atteint et ségrégant avec l'affection. Le gène *C2CD3* code pour une protéine colocalisant avec OFD1 et ayant un rôle essentiel dans l'assemblage des appendices distaux centriolaires. Les patients que nous rapportons présentent un phénotype moins sévère que les patients précédemment décrits. Il existe une variabilité d'expression associée aux mutations du gène *C2CD3* qui pourrait s'expliquer par les différents génotypes. L'identification de nouveaux patients et de différentes mutations du gène *C2CD3* pourrait aider à mieux définir ce nouveau sous-type de syndrome OFD et de mieux établir une corrélation entre le phénotype et le génotype.

**#3504 : Phénotypage inverse d'un patient avec mutation CRIPT et expansion de spectre phénotypique associé**

**Auteurs :**

BENEDICTE DEMEER (1), Ali DADBAN (2), Pierre VABRES (3), Audrey VANRENTERGHEM (4), Dominique BREMOND-GIGNAC (5), Bernard ROMEO (6), Julien THEVENON (7), Bernard ARAL (8), Jean-Baptiste RIVIERE (9), Laurence FAIVRE (7)

1. unité de génétique clinique / EA 4666, NCHU Amiens-Picardie / Université de Picardie Jules Verne, Amiens, France
2. service de dermatologie, NCHU Amiens-Picardie, Amiens, France
3. Service de Dermatologie / EA 4271 , CHU Le Bocage / Université de Bourgogne , Dijon, France
4. Service de gastro-entérologie pédiatrique, NCHU Amiens-Picardie, Amiens, France
5. service d'ophtalmologie, NCHU Amiens-Picardie, Amiens, France
6. Service de pneumologie pédiatrique, NCHU Amiens-Picardie, Amiens, France
7. CLAD, Centre de Génétique et Pédiatrie 1 / EA 4271 , Hôpital d'enfants / Université de Bourgogne , Dijon, France
8. Laboratoire de génétique moléculaire / EA 4271 , CHU Le Bocage / Université de Bourgogne , Dijon, France
9. Laboratoire de génétique moléculaire / EA 4271 , CHU Le Bocage / Université de Bourgogne , Dijon, France

**Mots clefs :** séquençage haut débit, phénotypage inverse, cript

**Résumé :**

Nous rapportons le cas d'un patient âgé de 5 ans, présentant l'association d'un retard statural pré et post natal (taille : -4DS), microcéphalie (PC: -3,5DS), pancytopénie transitoire, dysmorphie faciale, difficultés alimentaires, retard de développement et de langage, hyperlaxité globale, difficultés significatives du sommeil, et d'anomalies génitales, oculaires et des extrémités. Il présente également des signes de dysplasie ectodermique et des anomalies de la pigmentation.

L'ACPA (Agilent 60k), la recherche de cassures chromosomiques et le bilan métabolique étaient négatifs. Le séquençage haut débit d'exome a montré une mutation homozygote entraînant un décalage du cadre de lecture du gène CRIPT, récemment rapporté comme un gène impliqué dans les nanismes primordiaux (Shaheen et al, 2014). La mutation, décrite comme probablement pathogène, a été confirmée en méthode Sanger et retrouvée à l'état hétérozygote chez les parents sains, apparentés.

Les 2 cas de la littérature montrent des similarités phénotypiques notables avec une dysmorphie faciale, un retard de croissance, une microcéphalie, un retard psychomoteur, et des anomalies oculaires et des extrémités. Une hypopigmentation « tachetée » est également décrite chez le patient le plus âgé.

Ce cas est un exemple de phénotypage inverse. La publication de Shaheen et al nous a permis de poser un diagnostic chez ce patient, et de confirmer, en décrivant un troisième cas, la probable implication du gène CRIPT dans une entité syndromique distincte. Néanmoins l'association au terme de nanisme primordial et les critères larges utilisés par les auteurs peuvent être déroutants et ne pas permettre à certains cliniciens de retenir ce diagnostic. Ainsi, par exemple, les signes cutanés très spécifiques retrouvés chez notre patient, mais peu détaillés précédemment, semblent représenter un point d'appel clinique important au diagnostic.

#3506 : Le syndrome de déficit en transporteur de glucose type 1 : étude clinique et génétique de deux cas

**Auteurs :**

Hana SAFRAOU (1), Ichraf KRAOUA (2), Ilhem BEN YOUSSEF-TURKI (2), Sandrine VUILLAUMIER-BARROT (3), Ridha M'RAD (1)

1. Service des maladies congénitales et héréditaires, EPS Charles Nicolle, Tunis, Tunisie
2. Service de Neurologie Pédiatrique, Institut National Mongi Ben Hmida de Neurologie, Tunis, Tunisie
3. Service de Biochimie et Génétique, Hôpital bichat-Claude Bernard, Paris, France

**Mots clés :** Transporteur de glucose type 1, Epilepsie, mouvements anormaux, hypoglycorrachie, SLC2A1, régime cétogène

**Résumé :**

**Introduction :** Le déficit en GLUT1 ou la maladie De Vivo est maladie métabolique rare et de description récente, due à une anomalie du transport du glucose au niveau cérébral. Son phénotype est variable et en pleine expansion. Dans notre pays, le spectre de cette maladie est peu connu. Nous rapportons les deux premiers cas Tunisiens de déficit en GLUT1 et nous discutons les aspects cliniques et génétiques.

**Observations :** Le patient P1 est un garçon âgé de 6 ans. Il avait un retard mental léger, un retard du langage, une chorée généralisée et un syndrome cérébelleux avec une aggravation des troubles moteurs après effort physique. Il ne présentait pas d'épilepsie ni de microcéphalie. La patiente P2 est une fille âgée de 1an et 6 mois. Elle avait un retard psychomoteur. A l'âge de 8 mois, elle a développé des myoclonies et des absences résistantes aux antiépileptiques classiques. Il n'y avait pas de microcéphalie ni de fluctuation de la symptomatologie en fonction de l'alimentation. Chez les deux patients, la PL a mis en évidence une hypoglycorrachie (P1 : 1.70 mmol/L et P2 : 1,2 mmol/L) et une diminution du rapport glucose LCR/sang (P1 : 0.35 chez et P2 : 0,26). Chez P1, l'étude moléculaire du gène *SLC2A1* a montré une nouvelle mutation hétérozygote de type framshift de l'exon 7 c.966delC (p.Val323Cysfs\*17). La transmission était autosomique dominante car seule la mère asymptomatique, avait cette mutation. P2 avait une mutation *de novo*, de type faux-sens de l'exon 4 c.277C > T (p.Arg93Trp). C'est une mutation hot-spot déjà décrite. P1 a été mis sous régime cétogène sans amélioration clinique avec mauvaise observance. Chez P2, l'instauration précoce du régime a permis d'équilibrer l'épilepsie.

**Conclusion :** Le déficit en GLUT1 est une maladie neuro-métabolique peu connue et probablement sous diagnostiquée en raison de son spectre phénotypique complexe et pleiotropique. Le diagnostic est aisé, basé sur la mise en évidence d'une hypoglycorrachie et confirmé par l'étude moléculaire du gène *SLC2A1*. La reconnaissance de cette maladie est fondamentale car elle est potentiellement traitable.

**#3510 : Etude du spectre clinique de la polykystose autosomique récessive en anténatal.**

**Auteurs :**

Imène Boujelbène (1), Laurence MICHEL-CALEMARD (2), Médiha Trabelsi (1), Inès Ouertani (1), Lilia Kraoua (1), Rym Meddeb (1), Faouzi Maazoul (1), Taher Gargah (3), Leila Attia (4), Aida Masmoudi (5), ridha M'rad (1)

1. Service des maladies congénitales et héréditaires., EPS Charles Nicolle Tunis, Tunis, Tunisie
2. Centre de Biologie et Pathologie Est, CHU de Lyon HCL - GH Est, Lyon, France
3. Service de néphropédiatrie, EPS Charles Nicolle Tunis, Tunis, Tunisie
4. service de gynécologie, EPS Charles Nicolle Tunis, Tunis, Tunisie
5. Service de foetopathologie, Centre de maternité la Rabta, Tunis, Tunisie

**Mots clefs :** ARPKD, anténatal, rein, PKHD1, conseil génétique

**Résumé :**

**But**

Déterminer le spectre des signes cliniques et pronostiques de la polykystose autosomique récessive en anténatal  
Évaluer la pertinence de l'étude moléculaire du gène PKHD1 pour le diagnostic étiologique et pronostique des reins hyperéchogènes d'oligoamnios et de kystes rénaux dépistés à

**Patients et méthodes :**

Étude rétrospective sur 17 cas de diagnostic prénatal de reins hyperéchogènes, d'oligoamnios et de kystes rénaux. Les données cliniques et échographiques anténatales ont été confrontées à celles du suivi postnatal et du pronostic à long terme et des résultats de l'étude moléculaire quand elle est réalisée.

**Résultats :**

L'étude moléculaire du gène PKHD1 a permis de confirmer le diagnostic d'ARPKD dans 8/16. Dans un cas il s'agissait d'une néphronophtise. Une association de mutation de TCF2 et PKHD1 a été retrouvée dans 1 cas. Aucun critère échographique anténatal n'est spécifique pour orienter l'étiologie. Les issues de grossesse comptent 5 interruptions médicales de grossesse (IMG), 6 décès néonataux et 4 enfants vivants. Un oligoamnios (n =8) est associé à un pronostic défavorable (IMG, décès néonatal ou vivants symptomatiques). Un DPN par étude moléculaire a été fait dans au moins 2 cas dont un cas de PKHD1 associé à une mutation de TCF2. Le fœtus était normal pour le gène PKHD1 mais muté au niveau de TCF2 et présentait une pyelectasie mineure à la naissance.

**Conclusion :**

Les caractéristiques des reins en échographie anténatale ne permettent pas de porter un diagnostic étiologique de certitude. Seules des malformations associées et l'histoire familiale orientent l'étiologie. La quantité de liquide amniotique et la taille des reins sont les meilleurs facteurs pronostiques. L'étude moléculaire permet d'affirmer avec certitude le diagnostic étiologique. Elle a un intérêt majeur dans la prévention en dispensant un conseil génétique et un DPN.

**#3515 : Etude clinique et génétique du syndrome de Prader –Willi : A propos de 25 cas Tunisiens**

**Auteurs :**

Ahlem Achour (1), Rym Meddeb (1), Mediha Trabelsi (1), Lilia Kraoua (1), Faouzi Maazoul (1), Ines Ouertani (1), khawla Khachnaoui (1), Molka Sebai (1), Imen Boujelbene (1), Leila Dardour (1), Ridha Mrad (1)

1. Service des Maladies Congénitales et Hérititaires, Hôpital Charles Nicolle, Tunis, Tunisie

**Mots clefs :** Prader-Willi ,région 15q11-q13 ,disomie uniparentale ,méthylation du locus SNRPN

**Résumé :**

Le syndrome de Prader-Willi (SPW) est une maladie génétique rare .Il se caractérise par une hypotonie néonatale sévère, une dysmorphie faciale discrète, un dysfonctionnement hypothalamo-hypophysaire ,un hypogonadisme, une obésité, un déficit intellectuel et des troubles du comportement. Ce syndrome est dû à un défaut d'expression des gènes de la région 15q11-q12 soumise à une empreinte parentale maternelle. Plusieurs mécanismes moléculaires sont impliqués: la microdélétion de la région 15q11-q13 (70%), une disomie uniparentale, une mutation du centre d'empreinte et une mutation du gène *UBE3A*.

Le but de notre travail est de faire une analyse clinique et génétique d'une série de patients Tunisiens ayant un SPW et d'établir une corrélation génotype- phénotype.

Il s'agit d'une étude rétrospective de 25 patients colligés dans notre service sur une période allant de 2000 à 2015. Le diagnostic a été confirmé par une étude de la méthylation du locus *SNRPN*, par une MS-PCR. La recherche d'une microdélétion 15q11.q12 a été réalisée par hybridation fluorescente in situ, puis, une étude de la disomie uniparentale (DUP) a été réalisée chez les cas non délétés en analysant des marqueurs microsatellites au niveau de cette région.

Il s'agit de 17 garçons et de 8 filles. 64% des patients ont été adressés à un âge inférieur à 2 ans. et le motif de consultation était l'hypotonie néonatale chez 60% des patients. L'âge maternel moyen à la conception était de 33 ans.

Sur le plan clinique, une hypotonie néonatale et une discrète dysmorphie faciale ont été retrouvés chez tous les patients. Les anomalies des organes génitaux externes étaient présentes chez 72% des cas. 48% des cas avaient un teint clair et 24% avaient des anomalies oculaires. Seuls 19 patients ont été suivis après l'âge de 2ans et une obésité a été observée chez 94% des cas. Le retard statural a été noté chez 30% des patients. 73% des cas avaient un retard du langage et une déficience mentale. Des troubles du comportement à type de crise de colère et d'auto agressivité ont été notés chez 26% des patients

Sur le plan génétique, le caryotype sanguin était normal chez 96% cas. Un patient avait une formule 47, XXY. Une microdélétion a été retrouvée chez 43% des patients et une DUP a été identifiée chez 36% des cas.

Un tableau clinique atténué, une avance de l'âge maternel, une absence d'hypopigmentation et une atténuation des troubles du comportement et du déficit intellectuel ont été notés chez les patients disomiques par rapport aux sujets délétés.

Le SPW est une affection hétérogène sur le plan clinique et génétique. La détermination du mécanisme moléculaire permet de donner un conseil génétique adéquat et l'établissement d'une corrélation génotype- phénotype oriente la prise en charge des patients.

#3525 : Syndrome de camurati-engelmann avec torus palatin : coincidence ou chevauchement phénotypique avec l'hyperostose de type worth ?

**Auteurs :**

Damien HAYE (1), Corinne COLLET (2), Annick TOUTAIN (3)

1. Génétique Médicale, Hôpital Universitaire Robert Debré, Paris, France
2. Service de Biochimie et Biologie Moléculaire, Hôpital Lariboisière, Paris, France
3. Génétique Médicale, Hôpital Bretonneau - CHU de Tours, Tours, France

**Mots clefs :** Camurati-Engelmann, ostéosclérose autosomique dominante de type Worth, torus palatin, *TGFB1*

**Résumé :**

Le syndrome de Camurati-Engelmann (SCE), ou dysplasie diaphysaire progressive, est une maladie génétique rare se transmettant sur le mode autosomique dominant. Environ 300 cas ont été décrits. Cette affection est caractérisée par une hyperostose des os longs et du crâne, une limitation des amplitudes articulaires, une fatigue musculaire proximale, une marche dandinante et des douleurs osseuses chroniques. Le syndrome de Camurati-Engelmann est lié à des mutations du gène *TGFB1*.

Nous rapportons une patiente âgée de 39 ans, d'origine ethnique vietnamienne, sans antécédent familial, adressée à la consultation de Génétique pour des douleurs des membres inférieurs, un épaissement des diaphyses des os longs, du crâne et un élargissement des cavités médullaires. Il est observé un torus palatin à l'examen clinique. L'atteinte osseuse associée à un torus palatin a fait évoquer une ostéosclérose autosomique dominante de type Worth, mais aucune mutation n'a été mise en évidence dans le gène *LRP5*. L'étude moléculaire du gène *TGFB1* a permis d'identifier une mutation hétérozygote c.653G > A (p.ARG218His) confirmant le diagnostic de syndrome de Camurati-Engelmann.

Le torus palatin est une exostose constituant une élévation de la ligne médiane du palais, sur la suture cruciforme qui unit les os palatin et maxillaire. Elle est plus fréquente dans certains groupes ethniques mais sa fréquence semble être faible chez les individus d'origine vietnamienne (0,9%). L'étiologie du torus palatin n'est pas élucidée mais une origine génétique est actuellement admise. L'ostéosclérose autosomique dominante de type Worth est fréquemment associée à un torus palatin contrairement au syndrome de Camurati-Engelmann. A notre connaissance, le syndrome de Camurati-Engelmann associé au torus palatin a été décrit dans une seule famille par Whyte et collaborateurs. Cette association ne serait donc pas fortuite mais pourrait traduire un chevauchement clinique et physiopathogénique avec l'ostéosclérose autosomique dominante de type Worth.

**#3526 : Implémentation du test MiSeqDx Cystic Fibrosis 139-Variant™ en mode semi-automatique dans un laboratoire spécialisé.**

**Auteurs :**

Ramdane Mallek (1), Sandrine Moukoury (1), Martine Olivi (1), Julien Rouzade (2), Jessy Brocheton (3), Anne Bazin (1), Isabelle Cuvelier (1), Pascale Kleinfinger (1), Laurence Lohmann (1), Jean-Marc Costa (4)

1. Département de Biologie Spécialisée et de Génétique, Laboratoire CERBA, Saint-Ouen l'Aumône, France
2. Field Application Support, Perkin-Elmer, Villebon-sur-Yvette, France
3. Département Application Support, Illumina, Paris, France
4. Département de Biologie Spécialisée et de Génétique, Laboratoire CERBA, Saint-Ouen l'Aumône, France

**Mots clefs :** Mucoviscidose, CFTR, NGS

**Résumé :**

Le test MiSeqDx Cystic Fibrosis 139-Variant™ (Illumina) est le premier test de séquençage nouvelle génération ayant obtenu le marquage CE-IVD. Ce test est destiné au dépistage de 139 variants cliniquement pertinents du gène CFTR tels que définis dans la database <http://www.cftr2.org>. Il intègre l'ensemble du workflow depuis la préparation des bibliothèques après capture des régions cibles par méthode TSCA (TruSeq Custom Amplicon) jusqu'à l'analyse bio-informatique à l'aide du logiciel MiSeq Reporter.

Nous présentons ici un workflow automatisé à partir de l'ADN génomique et qui produit des bibliothèques normalisées prêtes à être chargées sur le séquenceur. Les résultats sont comparés à la méthode de génotypage précédemment utilisée au laboratoire (Inno-Lipa 36/Fujirebio) et/ou au séquençage Sanger selon les mutations concernées et/ou une analyse de fragment pour le variant d'épissage IVS8(TG)(T).

Au total, 131 échantillons ADNs ont été testés sur 4 runs indépendants réalisés par deux techniciennes (2 runs par technicienne), chaque run incluant un témoin négatif (no template control), un témoin « normal » et un témoin « muté » (lignées Coriell) et 21 ou 45 patients. Pour évaluation de la robustesse, 23 échantillons (dont 5 présentant au moins un variant) ont été testés dans deux runs indépendants par deux techniciennes différentes. Tous les échantillons (sang total EDTA n=112, liquide amniotique frais n=17, ou cultivé n=2) ont été extraits selon les méthodes habituellement utilisées au laboratoire. Tous sauf 3 ont passé le contrôle qualité et ont abouti à un résultat interprétable. Ces 3 ADNs sont tous extraits à partir de liquide amniotique frais mais leurs concentrations étaient inférieures à celles préconisées par le fournisseur.

Hors analyse du variant d'épissage IVS8(TG)(T), les résultats obtenus pour les 129 échantillons répondant aux critères de validation sont concordants pour 119 entre les différentes méthodes. Pour 10 échantillons, les résultats diffèrent mais ces discordances sont toutes expliquées. Concernant, l'analyse du variant d'épissage IVS8(TG)(T), 112 échantillons ont fait l'objet d'une analyse comparative. Tous les résultats sont concordants à l'exception d'un échantillon portant un allèle (TG)10(T)11 (test Illumina) non détecté par les autres méthodes de génotypage mais confirmé par séquençage Sanger. Enfin, il n'a été noté aucune discordance pour les 23 échantillons ayant fait l'objet d'un test de reproductibilité, y compris pour le variant d'épissage IVS8(TG)(T).

L'ensemble des données obtenues avec le test MiSeqDx Cystic Fibrosis 139-Variant™ est permet d'envisager son utilisation en routine clinique. Son automatisation réduit de manière significative le temps technique tout en conservant un caractère flexible (traitement de 8 à 96 échantillons en multiples de 8) et améliorant le ratio cout/efficacité avec la possibilité de traiter 96 échantillons en parallèle en moins de 8 heures.

**#3533 : Un défaut d'ossification de l'écaille occipitale dans la dysplasie mandibuloacrale de type B.**

**Auteurs :**

Damien HAYE (1), Hend HIDRI (1), Jürgen KOHLHASE (2), Jonathan LEVY (3), Dan LIPSKER (4), Alain VERLOES (1)

1. Génétique Médicale, Hôpital Universitaire Robert Debré, Paris, France
2. Centre de Génétique Humaine , , Freiburg, Allemagne
3. Génétique Médicale, Hôpital Universitaire Robert Debré, France, France
4. Département de Dermatologie, CHU de Srtasbourg, Strasbourg, France

**Mots clefs :** Dysplasie mandibuloacrale de type B, ZMPSTE24, écaille occipitale

**Résumé :**

La dysplasie mandibulo-acrale avec lipodystrophie de type B (DMALB) est une maladie autosomique récessive rare caractérisée par une peau atrophique, une lipodystrophie et des signes squelettiques. Cette maladie est due à des mutations dans le gène ZMPSTE24, codant pour une metalloproteinase zinc, une enzyme importante de la maturation de la lamine. Neuf mutations différentes ont été décrites chez 11 patients issus de 9 familles indépendantes.

Nous rapportons un garçon âgé de 12 ans atteint d'une DMALB avec une mutation faux-sens homozygote dans le gène ZMPSTE24 (c.1196A > G ; p.Y399C). Ce patient a des signes cutanéophanériens et squelettiques typiques, une petite taille, une microcéphalie, une dysmorphie faciale et un défaut d'ossification de la région interpariétale de l'os occipital jusqu'à la suture occipitale transverse.

L'atteinte squelettique telle que l'acro-ostéolyse, l'ostéolyse des os longs, l'hypoplasie claviculaire, les fractures spontanées, le retard de fermeture des sutures du crâne et l'hypoplasie mandibulaire sont habituellement décrites dans la DMALB. Nous rapportons dans ce travail un défaut d'ossification de l'écaille occipitale. A notre connaissance cette atteinte a été rapportée une seule fois. L'os occipital est composé de différentes parties (squama, basio-, exo-, and supraoccipal) et son ossification est multicentrique. Cette observation illustre que des mutations homozygotes du gène ZMPSTE24 pourraient jouer un rôle spécifique dans l'ossification intramembraneuse de la partie interpariétale de l'écaille occipitale (os Inca). Le défaut d'ossification de la partie squameuse est un signe pathognomonique de la DMALB.

**#3539 : Phénotype fœtal du syndrome de cenani-lenz**

**Auteurs :**

Damien HAYE (1), Claude VIBERT-GUIGUE (2), Bruno CARBONNE (3), Marie-Laure BRIVAL (4), Nicole JOYE (5), Férechté ENCHA-RAZAVI (6), Bernd WOLLNIK (7), Alain VERLOES (1), Marie GONZALES (5)

1. Génétique Médicale, Hôpital Universitaire Robert Debré, Paris, France
2. Service de Gynécologie Obstétrique, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France
3. Service de Gynécologie-Obstétrique, Centre Hospitalier Princesse Grace, Monaco, France
4. Maternité des Lilas, Hôpital Privé, Lilas, France
5. Département de Génétique Médicale, Hôpital Armand Trousseau, Paris, France
6. Département de Génétique Médicale, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
7. Institut de Génétique Humaine, Université de Cologne, Cologne, Allemagne

**Mots clefs :** syndrome de Cenani-Lenz, récessif autosomique, LRP4, agénésie rénale, fente labio-palatine

**Résumé :**

Le syndrome de Cenani-Lenz (SCL) est une dysplasie squelettique autosomique récessive, acromélique/mésomélique, prédominant aux membres supérieurs, symétrique, caractérisée par une syndactylie des doigts et des orteils, une fusion et/ou une désorganisation des phalanges, des os carpiens, métacarpiens et métatarsiens, une hypoplasie et/ou une fusion du radius et de l'ulna. Une dysmorphie faciale (65%) et une hypoplasie ou une agénésie rénale (25 %) peuvent être associées. Environ 50 cas ont été décrits. Le SCL est lié à des mutations du gène LRP4.

Nous rapportons l'observation de 2 fœtus de sexe féminin issus d'un couple non apparenté. Chez le premier fœtus, des anomalies majeures des quatre membres ont été dépistées à l'échographie du premier trimestre. L'examen fœtopathologique à 13 SA retrouve une oligo/syndactylie, une agénésie rénale bilatérale et un rétrognathisme. Lors de la grossesse suivante, l'échographie dépiste une récurrence. L'examen foetopathologique montre un tableau malformatif identique, et une fente labio-palatine. L'étude du gène LRP4 montre que les 2 fœtus sont hétérozygotes composites pour deux mutations nouvelles: c.2680C > T (p.R894C) et c.3916C > T (p.Q1306X) confirmant le diagnostic de SCL.

Quatre fœtus avec des mutations de LRP4 ont été décrits précédemment (Li,2010 ; Lindy, 2014). IL a été proposé que les mutations stop de LRP4 et celles entraînant un décalage du cadre de lecture auraient un phénotype plus sévère que les faux-sens et les mutations d'épissage sans décalage du cadre de lecture. L'existence d'une mutation tronquante chez nos fœtus conforte cette hypothèse. Le diagnostic de SCL peut être évoqué au premier trimestre de grossesse chez un fœtus atteint d'anomalies majeures des membres d'autant qu'il existe à l'examen foetopathologique une atteinte acromélique/mésomélique sévère associée à une hypoplasie ou agénésie rénale.

**#3548 : Syndrome de Poland avec anomalie du membre inférieur: à propos d'une observation**

**Auteurs :**

Leïla Dardour (1), Ines Ouertani (2), Faouzi Maazoul (2), Ridha Mrad (2), Rania Ben Rebeh (2)

1. service des maladies héréditaires et congénitales, EPS Charles Nicolle, Sousse, Tunisie
2. service des maladies héréditaires et congénitales, EPS Charles Nicolle, Tunis, Tunisie

**Mots clefs :** Poland, atteinte du membre inférieur

**Résumé :**

Le syndrome de Poland est défini par l'association de deux anomalies : l'absence ou l'hypoplasie unilatérale de la portion sterno-costale du muscle grand pectoral et des anomalies homolatérales du membre supérieur. L'incidence est estimée globalement à 1 pour 30 000 naissances. Ce syndrome est le plus souvent sporadique mais de rares cas familiaux ont été décrits, compatibles avec une transmission autosomique dominante. Nous rapportons l'observation d'un nourrisson présentant un syndrome de Poland avec atteinte du membre inférieur homolatéral.

Il s'agit d'une fille âgée de 5 mois, issue d'un mariage consanguin du premier degré, qui nous a été adressée pour agénésie de la main gauche. L'enquête génétique était négative. L'échographie morphologique faite à 22 SA avait montré une agénésie partielle de la main gauche.

L'examen a objectivé une asymétrie mammaire avec une plaque aréolo-mamelonnaire de petite taille, abaissée. Elle présentait une symbrachydactylie de la main gauche. Le pied gauche était siège d'une syndactylie partielle des deuxième, troisième et quatrième orteils.

Le développement psychomoteur était, par ailleurs, normal pour l'âge.

L'échographie cardiaque avait montré une petite communication inter-auriculaire et une déviation droite du cœur. Les échographies rénales et trans-fontanellaires étaient normales ainsi que les radiographies du bassin et du rachis.

Son caryotype sanguin était normal.

Le syndrome de Poland est caractérisé par une déformation thoraco-mammaire et une anomalie du membre supérieur homolatéral avec prédilection pour la main, par défaut d'irrigation de l'artère sub-clavière.

L'atteinte du membre inférieur homolatéral est exceptionnelle.

**#3554 : Exemples de syndromes génétiques avec une agénésie du corps calleux**

**Auteurs :**

Imene Boujelbene (1), Mediha Trabelsi (1), Leila Dardour (1), Lilia Kraoua (1), Rania Ben rabeah (2), Rim Meddeb (1), Ines Ourtani (3), Khaoula Khachnaoui (1), Molka Sebai (1), Ahlem Achour (1), Ilhem Turki (4), Faouzi Maazoul (1), Ridha Mrad (1)

1. Service des maladies congénitales et héréditaires, EPS Charles Nicolle, , tunis, Tunisie
2. Service de Pédiatrie B, Hôpital d'enfant de Tunis , , tunis, Tunisie
3. Service des maladies congénitales et héréditaires, EPS Charles Nicolle, faculté de médecine de tunis, tunis, Tunisie
4. Service de neurologie de l'enfant et de l'adolescent, Institut mongi ben hmida de neurologie, , tunis, Tunisie

**Mots clefs :** agénésie du corps calleux, syndromes génétiques, anomalies chromosomiques, conseil génétique

**Résumé :**

L'agénésie du corps calleux (ACC) est la plus fréquente des malformations cérébrales. Dans 51% des cas, l'ACC est associée à d'autres malformations. Ces ACC syndromiques sont attribuées à une cause génétique dans 30 à 45% des cas : les anomalies chromosomiques sont retrouvées dans 10% des ACC et les syndromes génétiques dans les 20-35% restants.

Le but de ce travail est de souligner l'intérêt de l'examen clinique dans l'orientation étiologique des ACC à travers 10 observations.

Notre série comporte 4 garçons et 6 filles, non apparentés, adressés pour une ACC syndromique. L'âge moyen à la première consultation était de trois ans. Cinq patients sont issus de couples apparentés. Le diagnostic d'un syndrome de Seckel était évoqué chez trois patients devant l'association d'un retard de croissance, d'une microcéphalie congénitale, d'une dysmorphie faciale caractéristique (DF) et d'une déficience intellectuelle (DI). L'association d'une ACC à une polydactylie, une macrocéphalie, une DF et une DI nous a permis de retenir le syndrome acro-calleux chez une patiente. Le syndrome de Sotos est retenu chez une patiente ayant une avance staturo-pondérale, une DI et une épilepsie. Un tableau clinique regroupant une cataracte congénitale, une microphthalmie, une hypotonie axiale contrastant avec une hypertonie périphérique, un retard de croissance postnatal, une DF et des anomalies des extrémités nous a permis de retenir le syndrome COFS chez un patient. Le syndrome OFD type 1 était évoqué chez une patiente présentant une langue polylobée, une fente palatine, des anomalies des gencives, une DF, une polydactylie et des malformations du système nerveux central. L'association d'une DF, d'anomalies oculaires, d'un retard psychomoteur et d'une épilepsie a permis de retenir le diagnostic de Mowat-Wilson chez une patiente. La présence de malformations de la ligne médiane, d'une cryptorchidie et d'un retard de développement nous a évoqué le syndrome d'Opitz. Malgré un caryotype normal, l'hybridation *in situ* était réalisée chez un patient évoquant cliniquement une trisomie 8 et révélait une trisomie 8 en mosaïque. L'ACC était totale dans neuf cas. Elle était associée à d'autres malformations cérébrales dans huit cas.

Parmi les syndromes retenus chez nos patients, l'ACC est souvent décrite dans les syndromes acro-calleux, de Mowat-Wilson, de Seckel, d'Opitz et COFS alors qu'elle est plus rare dans les syndromes de SOTOS, de SLO et OFD type 1. Le quart des réarrangements du chromosome 8, dont la trisomie 8 en mosaïque, sont également associés à une ACC.

Devant une ACC, un examen clinique minutieux doit être réalisé à la recherche d'autres signes malformatifs permettant d'orienter le diagnostic étiologique et de donner un conseil génétique adapté. L'analyse moléculaire, lorsqu'elle est possible, en plus de la confirmation diagnostique permet de proposer un diagnostic prénatal pour les grossesses ultérieures.

**Auteurs :**

Clémence Vanlerberghe (1), Anne-Sophie Jourdain (2), Frédéric Frenois (1), Aurélie Mezel (3), Guy Vaksman (4), Bruno Delobel (5), Nicole Porchet (2), Valérie Cormier-Daire (6), Fabienne Escande (2), Sylvie Manouvrier-Hanu (1)

1. Clinique de Génétique Médicale, Hôpital Jeanne de Flandre, CHRU Lille, Lille, France
2. Institut de Biochimie et Génétique Moléculaire, Centre de biologie Pathologie, CHRU Lille, Lille, France
3. Unité de chirurgie orthopédique infantile, Hôpital Jeanne de Flandre, CHRU Lille, Lille, France
4. Centre de Cardiologie Infantile, Cabinet Vendôme-Cardio, Lille, France
5. Centre de Génétique Chromosomique, Hôpital Saint Vincent de Paul, Lille, France
6. Service de Génétique, U781, Fondation Imagine, Hôpital Necker-Enfants malades AP-HP, Paris, France

**Mots clefs :** Holt-Oram, TBX5, malformations des membres, cardiopathies congénitales

**Résumé :**

Le syndrome de Holt-Oram (HOS) se caractérise par l'association d'une atteinte pré-axiale des membres supérieurs et d'une malformation cardiaque, avec ou sans trouble de la conduction. Cette pathologie, de transmission autosomique dominante, est liée à des mutations perte de fonction de *TBX5*, indispensable au développement du bourgeon de membre supérieur et du cœur. Les objectifs de notre étude sont d'abord cliniques, par la description de l'étendue du spectre phénotypique du HOS et la place de ses diagnostics différentiels, puis moléculaires, par la description de nouvelles mutations de *TBX5*, d'éventuelles corrélations génotype-phénotype et de possibles autres déterminismes moléculaires du HOS. Dans ce but, 228 dossiers de patients adressés par différents généticiens cliniciens français, suisses, belges, anglais et turcs, dont le gène *TBX5* a été étudié par séquençage et MLPA au CHRU de Lille, ont été rétrospectivement analysés. L'étude phénotypique classait ces patients en 4 catégories : typiques avec cardiopathie, typiques sans cardiopathie, douteux ou exclus, selon des critères diagnostiques inspirés de la littérature. Certains patients typiques non mutés bénéficiaient d'analyses moléculaires complémentaires. Une mutation de *TBX5* était identifiée chez 78 patients, constituant la plus grande série décrite à ce jour. Parmi les patients typiques avec cardiopathie, le rendu diagnostique était de 70 % (55/79) alors qu'il était de 23 % (6/26) chez les typiques sans cardiopathie et de 16 % (17/107) chez les douteux. Par ailleurs, 21 patients présentaient un diagnostic différentiel, dont 13 parmi les typiques. L'étude clinique souligne l'importance de certains critères diagnostiques : bilatéralité et asymétrie de l'atteinte pré-axiale, atteinte de la mobilité des coudes et des épaules, caractère septal de l'atteinte cardiaque. Une syndactylie II-III était identifiée chez 3 patients. La polydactylie pré-axiale n'était retrouvée chez aucun patient muté mais était associée à une mutation de la ZRS chez une patiente considérée "typique". Nous identifions 49 nouvelles mutations de *TBX5*. La seule corrélation génotype-phénotype observée concerne les mutations faux-sens, semblant être responsables de cardiopathies plus complexes que les mutations tronquantes ( $p=0.05$ ). Les études moléculaires complémentaires n'identifiaient pas de nouveaux gènes impliqués dans le HOS. Nous discutons, d'une part, de la stratégie diagnostique à adopter devant une suspicion de HOS, prenant en compte sa variabilité d'expression et ses chevauchements phénotypiques avec de nombreux diagnostics différentiels, tel que le syndrome d'Okhiro et, d'autre part, de l'implication d'éléments régulateurs de *TBX5* ou d'une éventuelle hétérogénéité génétique dans le HOS.

## GÉNÉTIQUE CLINIQUE, DÉVELOPPEMENT, FOETOPATHOLOGIE

**#3557 : Sclérose Tubéreuse de Bourneville en mosaïque avec atteinte cutanée et rénale, causée par une mutation de TSC1 transmise à la descendance, retrouvée dans une lésion mais non dans l'ADN du sang circulant.**

### Auteurs :

Anna Serova-Erard (1), Virginie Magry (1), Stéphanie Amarger (2), Marion Gérard (3), Marie-Claire Malinge (4), Guillaume Coll (5), Jacques Peyrot (2), Jean-Paul Boiteux (6), Pierre Dechelotte (7), Renaud Touraine (8), François Cornélis (1)

1. Génétique médicale, CHU de Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, France
2. Dermatologie, CHU de Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, France
3. Génétique, CHU de Caen, Caen, France
4. Département de Biochimie et Génétique, CHU d'Angers, Angers, France
5. Neurochirurgie, CHU de Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, France
6. Urologie, CHU de Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, France
7. Anatomopathologie, CHU de Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, France
8. Génétique clinique chromosomique et moléculaire, CHU de St-Etienne, St-Etienne, France

**Mots clefs :** Sclérose Tubéreuse de Bourneville, mosaïque, TSC1

### Résumé :

Les mosaïques somatiques, fréquentes dans la sclérose tubéreuse de Bourneville (STB), sont rarement associées à des manifestations cliniques de la maladie. Nous rapportons le cas d'un homme de 52 ans atteint de tumeurs de Koenen aux doigts et aux orteils depuis l'âge de 30 ans et d'un angiomyolipome rénal à 41 ans, permettant de porter le diagnostic de STB selon les critères révisés en 2013. Aucune manifestation de STB n'était retrouvée à l'IRM cérébrale. Le diagnostic de STB avait été porté chez l'une de ses filles atteinte d'épilepsie depuis l'âge de 4 ans, de taches cutanées achromiques et d'une lésion en peau de chagrin ainsi que de tubers corticaux. Un fibrome gingival est survenu à 11 ans et un astrocytome à cellules géantes à 14 ans. Une mutation de TSC1 a été identifiée à l'âge de 15 ans dans l'exon 18 (c.227C>T, Q743X). La mutation était absente à l'analyse de l'ADN du sang circulant chez les deux parents et chez l'autre fille. Après avoir contrôlé l'absence de la mutation dans le sang circulant du père en Sanger et DHPLC, celle-ci a été retrouvée dans l'ADN d'une tumeur de Koenen.

Il s'agit donc d'un cas de STB par mutation de TSC1 avec atteinte cutanée (tumeurs de Koenen), rénale (angiomyolipomes) et transmission à la descendance de la mutation retrouvée dans une lésion cutanée, mais non dans l'ADN du sang périphérique. Un séquençage « ultra-profond » (200x) est envisagé pour vérifier l'absence de la mutation dans le sang circulant. En effet, la présence de la mutation dans un organe issu de l'ectoderme (peau) et deux organes issus du mésoderme (rein et gonades), alors qu'elle est absente dans le sang issu également du mésoderme, pose question quant au stade de survenue d'une mutation post-zygotique au cours de l'embryogénèse.

**Auteurs :**

Hassan AKALLAKH (1)

1. génétique médicale -CHU Med VI Marrakech, centre de recherche clinique, Marrakech, Maroc

**Mots clefs :** Dysostose cleido-crânienne ; diagnostic clinique ; conseil génétique .

**Résumé :**

**a. Introduction :** La dysostose cléido-crânienne est une pathologie congénitale peu fréquente aux formes cliniques diverses. Elle se manifeste non seulement par une hypoplasie ou agénésie claviculaire, des anomalies bucco-dentaires ; mais aussi par des signes crânio-faciaux ,des atteintes pelviennes et rachidiennes . Nous rapportons dans ce travail, un nouveau cas de dysostose cleido-crânienne, colligé au service de génétique médicale du CHU Mohammed VI de Marrakech.

**b. Patients et méthodes :** Il s'agit de l'enfant A- Z, de sexe féminin, née le 21/01/2004, non consanguine ,deuxième d'une fratrie de trois, adressée en consultation de génétique médicale pour dentinogenèse imparfaite et anomalies osseuses. Devant ce tableau un bilan radiologique a été demandé .

**c. Résultat :** Les données cliniques et le bilan radiologique notamment une radiographie thoracique de face a objectivé une hypoplasie claviculaire bilatérale qui sont en faveur d'une dysostose cléido-crânienne de même une radiographie panoramique dentaire et celle de la colonne vertébrale sont en cours de réalisation.

**d. Conclusion :** A travers cette observations, nous mettons en exergue le rôle du généticien, dans le diagnostic de dysostose cléido-crânienne, l'élaboration du conseil génétique adapté .

**#3567 : PMM2-CDG syndrome : Etude clinique et génétique de trois familles tunisiennes**

**Auteurs :**

Lilia Kraoua (1), Ichraf Kraoua (2), Neziha Kaabachi (3), Nathalie Seta (4), Sandrine Vuillaumier-Barrot (5), Ilhem Ben Youssef Turki (2), Ridha Mrad (1)

1. Service des Maladies Congénitales et Héréditaires, Hôpital Charles Nicolle, Tunis, Tunisie
2. Service de Neurologie de l'Enfant et de l'Adolescent, Institut National Mongi Ben Hmida de Neurologie, Tunis, Tunisie
3. Laboratoire de Biochimie, Hôpital La Rabta, Tunis, Tunisie
4. Service de Biochimie Métabolique et Cellulaire, Hôpital Bichat-Claude Bernard, Paris, France
5. Service de Biochimie et Génétique, Hôpital Bichat-Claude Bernard, Paris, France

**Mots clefs :** Anomalie congénitale de la glycosylation, phosphomannomutase, atrophie cérébelleuse, ataxie, mutation

**Résumé :**

**Introduction :** Le CDG Ia, par déficit en phosphomannomutase 2 ou PMM2-CDG, représente 70% des CDG syndromes. La forme neurologique du CDG Ia est caractérisée par une triade : retard psychomoteur, strabisme convergent et une atrophie olivo-ponto-cérébelleuse.

Notre objectif était d'étudier les particularités cliniques, paracliniques et génétiques de six patients tunisiens atteints de CDG Ia.

**Méthodes :** Etude rétrospective de six patients, âgés de 4 à 16 ans, appartenant à trois familles tunisiennes non apparentées, suivis au service de Neurologie de l'Enfant et de l'Adolescent à l'Institut National Mongi Ben Hmida de Neurologie à Tunis pour CDG Ia dans sa forme neurologique de la période 2005 à 2015. Le dépistage par isoélectrofocalisation de la transferrine et la confirmation diagnostique par dosage enzymatique de la phosphomannomutase et par étude moléculaire du gène *PMM2* ont été réalisés respectivement au laboratoire de Biochimie la Rabta à Tunis et aux services de Biochimie et de Génétique Moléculaire au CHU Claude Bernard à Paris.

**Résultats :** L'âge des patients à la première consultation variait entre 14 mois et 8 ans. Tous nos patients avaient les signes cliniques caractéristiques de la forme neurologique du CDG Ia à savoir la triade retard psychomoteur, strabisme convergent et atrophie cérébelleuse. D'autres signes évocateurs à type de dysmorphie faciale (6/6), de mamelons ombiliqués (2/6) et de répartition anormale des graisses (2/6) étaient variablement associés. Le bilan de retentissement a montré la présence de déformations squelettiques (4/6), d'une atteinte neurogène (4/4), d'une cytolyse hépatique (4/6), d'un déficit en IgA (3/3), de reins hyperéchogènes (2/6), d'une hépatomégalie (1/6), d'une baisse du taux de l'antithrombine III et la protéine S (1/1) et d'un hypogonadisme (1/1). L'isoélectrofocalisation de la transferrine et le Western Blot réalisés chez tous les patients avaient montré un profil anormal en faveur d'un CDG type I. La confirmation diagnostique de CDG Ia a été réalisée par dosage de l'activité leucocytaire de la PMM retrouvée effondrée et par étude moléculaire du gène *PMM2* ayant permis l'identification de la mutation c.395T > C (I132T) à l'état homozygote chez les six patients. Une prise en charge symptomatique et multidisciplinaire était instaurée pour tous nos patients.

**Conclusion :** Le CDG Ia est une maladie métabolique rare, handicapante et non traitable. Le diagnostic doit être évoqué devant la triade retard psychomoteur, strabisme et atrophie cérébelleuse. La présence de la même mutation I132T chez nos six patients suggère un effet fondateur dans la population tunisienne. La recherche ciblée de cette mutation chez les patients tunisiens atteints de CDG Ia permettrait de confirmer rapidement le diagnostic et de proposer un diagnostic prénatal précoce et fiable pour leurs familles.

**Auteurs :**

Remy Choquet (1), Claude Messiaen (1), Amelie Ruel (1), Laurence Faivre (2), Sylvie Odent (3), Alain Verloes (4), Didier Lacombe (5), Sylvie Manouvrier (6), Nicole Philip (7), Pierre Sarda (8), David Geneviève (8), Patrick Ederly (9), Christine Francannet (10), Anne-Sophie Lapointe (11), Christel Thauvin-Robinet (2), Marie Gonzales (12), Tania Attié (13), Paul Landais (14)

1. BNDMR, APHP, Paris, France
2. Centre de Génétique, CHU de Dijon, Dijon, France
3. Service de Génétique Clinique, CHU de Rennes, Rennes, France
4. Department of Medical Genetics and INSERM UMR 1141, Hôpital Robert Debré, APHP, Paris, France
5. Génétique Médicale, CLAD Sud-Ouest, CHU Bordeaux, Bordeaux, France
6. Service de Génétique Clinique, CHRU de Lille, Lille, France
7. Service de Génétique Clinique, CHU de Marseille, Marseille, France
8. Centre de Génétique, CHU de Montpellier, Montpellier, France
9. Centre de Génétique, Hospices civils de Lyon, Lyon, France
10. Service de Génétique Clinique, CHU Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, France
11. Filière AnDDI-RARES, APHP, Paris, France
12. Service de Génétique Clinique, Hôpital Trousseau, APHP, Paris, France
13. Service d'histologie, embryologie et cytogénétique, Hôpital Necker, APHP, Paris, France
14. EA2415, Service BESPIM, Université de Montpellier, CHU Nîmes, Montpellier, France

**Mots clefs :** épidémiologie, bases de données, anomalies du développement

**Résumé :**

Depuis 2007, les centres labellisés « anomalies du développement », regroupés au sein de la FeCLAD et de la filière AnDDI-Rares, utilisent CEMARA (CEntres MALadies RARes) pour l'enregistrement et le suivi de leurs patients maladies rares (MR).

**OBJECTIF**

L'objectif principal est, à partir des données CEMARA, de caractériser la demande et l'offre de soins en matière d'anomalies du développement et d'analyser leur adéquation.

**METHODES**

Les centres de référence/compétence ont recueilli par patient un set de données minimum défini par consensus en 2006. L'analyse a porté sur les données 2007-2014 codées à partir du thesaurus d'Orphanet et/ou d'une description d'anomalies chromosomiques. Un «cas» MR est défini par un statut «malade» et un degré d'assertion diagnostique : confirmé, probable ou non-classable. Le délai au diagnostic a été estimé (mois) et la proportion de patients restés sans diagnostic. Les proportions de prévalence MR brutes et standardisées (âge et sexe), nationale et régionales, sont présentées avec leurs intervalles de confiance à 95% (loi de Poisson). Une analyse de la distance entre le lieu de résidence et le site de prise en charge a été réalisée ainsi qu'une analyse du délai au diagnostic pour les patients sans diagnostic confirmé.

**RESULTATS**

La filière est composée de 8 centres de référence, 7 centres de compétence (CC), 48 sites de prise en charge, 271 médecins, 171 paramédicaux et 139 autres personnels utilisateurs de CEMARA. Au 31/12/2014, 130.274 malades étaient référencés. En moyenne, 18.730 nouveaux cas MR ont été répertoriés chaque année ; le recrutement a été en augmentation régulière. Près de 3/4 des cas sont des enfants. Plus de 2800 affections distinctes ont été identifiées avec leurs fréquences respectives. Parmi les 20 entrées les plus fréquentes on notera une granularité élevée du diagnostic (peu spécifique) pour un nombre important de patients. Les âges aux 1ers signes étaient : 20% en anténatal, 25% à la naissance et 35% ultérieurement. Les patients étaient adressés principalement par les pédiatres (enfants) et par les spécialistes hospitaliers (adultes). La prévalence de l'ensemble des affections répertoriées au 31/12/2014 était de 838 par million d'habitants (IC 95% [677 – 1026]). Une prévalence pour les principales affections est proposée. Le temps médian d'accès à un centre de prise en charge était de 33 minutes avec une distance médiane de 33 km. La médiane était deux fois plus élevée pour quelques sites tels Tours, Montpellier, Amiens ou Bordeaux.

Le diagnostic est confirmé pour 41% des cas, cette proportion est vraisemblablement sous-estimée (mise à jour incomplète). Pour 59% des patients sans diagnostic confirmé, le délai au diagnostic est supérieur à 6 ans pour 63% des cas, de 8 ans d'âge médian.

## CONCLUSION

Cette étude descriptive des données AnDDI-Rares est la première avec un tel recul. Elle permet de d'approcher l'épidémiologie des MR liées aux anomalies du développement en France.

**#3586 : Evaluation de l'exhaustivité du recensement des patients porteurs de malformations rares par la base de données CEMARA en Auvergne**

**Auteurs :**

Isabelle Perthus (1), Baptiste Troude (2), Claude Messiaen (3), Florence Gaumet (4), Céline Pebrel-Richard (5), Hélène Laurichesse (6), Christine Francannet (7)

1. génétique médicale, CEMC-Auvergne, CHU Estaing, Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, France
2. génétique médicale, CHU Estaing, Clermont-Ferrand, France
3. Biostatistiques et informatique médicale, hôpital Necker, Paris, France
4. CEMC-Auvergne, CHU Estaing, Clermont-Ferrand, France
5. cytogénétique, CHU Estaing, Clermont-Ferrand, France
6. Centre pluridisciplinaire de diagnostic prénatal, CEMC-Auvergne, CHU Estaing, Clermont-Ferrand, France
7. génétique médicale, CEMC-Auvergne, CHU Estaing, Clermont-Ferrand, France

**Mots clefs :** malformations congénitales rares, centres de référence, épidémiologie, base de données, registre de malformations

**Résumé :**

Les données concernant les patients suivis dans chacun des 8 CLAD nationaux sont informatisées au moyen de l'application CEMARA. Il est intéressant d'évaluer pertinence de l'utilisation de CEMARA en tant qu'outil épidémiologique pour l'étude des malformations congénitales rares. La région Auvergne se prête à cette étude car elle est couverte à la fois par un CLAD et par un registre de malformations (CEMC-Auvergne) L'objectif de ce travail est d'évaluer l'exhaustivité du recensement par CEMARA des patients porteurs d'anomalies chromosomiques ou malformations congénitales rares en Auvergne.

Méthodologie :Critères d'inclusion des cas à partir du registre: enfants nés vivants ou à l'issue d'une IMG ou décédés in utero après 21 SA dans une maternité d'Auvergne entre 2009 et 2013 et porteurs de malformation congénitale sévère (relevant a priori d'une prise en charge par le CLAD) ou d'une anomalie chromosomique, diagnostiquées avant l'âge de 1 an. Croisement de cette base avec une extraction de CEMARA correspondant aux patients du CLAD Auvergne nés entre 2009 et 2013, en fonction de l'identité et de la date de naissance de l'enfant et de sa mère.

Résultats :Moins de 30% des enfants recensés par le registre et répondant aux critères d'inclusion font partie de la file active des patients du CLAD. Ce taux monte à près de 60% pour les syndromes, associations, polymalformations, ou microremaniements chromosomiques. Pour les de malformations isolées d'un seul appareil anatomique, ce taux est faible et varie selon le type d'appareil concerné (< 10 % pour le cœur, la peau, le tractus respiratoire ou la paroi environ 30 % pour l'œil, le squelette ou le système nerveux central dont les atteintes ont des répercussions sensorielles ou cognitivo-développementales sévères). ¼ des patients porteurs d'aneuploïdie ont été vus au CLAD. La majorité des enfants porteurs de trisomie 21 libre et homogène sont suivis en dehors du CLAD.

Conclusion :CEMARA ne nous semble pas pouvoir être utilisé en tant qu'outil épidémiologique pour l'évaluation de l'incidence des malformations congénitales rares au niveau régional ou national. Cet outil permet cependant de disposer d'une importante base de données nationale concernant les anomalies du développement au sens large : retards de développement sans malformations, anomalies sensorielles isolées... qui ne sont pas recensés par les registres de malformation. Les deux bases se complètent, l'une ne peut se substituer à l'autre. Ce travail a permis d'évaluer les pratiques du CLAD Auvergne quant au type de patients suivis et leur représentativité. Il sera poursuivi en étudiant plus précisément pourquoi certains patients qui auraient dû être adressés au CLAD ne l'ont pas été (dont plus de 40% parmi les atteintes les plus sévères) afin de cibler précisément des campagnes d'information à l'intention des professionnels et des familles pour que chaque patient porteur de malformation rare puisse bénéficier de l'expertise du Centre de Référence.

#3588 : PIEZO2-related congenital arthrogryposis: Further delineating diagnostic hallmarks and phenotypic spectrum.

**Auteurs :**

klaus dieterich (1), john rendu (1), nathalie roux-buisson (1), alexandra afenjar (2), marie vincent (3), pierre-simon jouk (4), julien fauré (1)

1. Univ. Grenoble Alpes, Grenoble Institut des Neurosciences, GIN, F--38000 Grenoble, France, CHU de Grenoble, F--38000 Grenoble, France, grenoble, France
2. Génétique Médicale, Hôpital Trousseau, Paris, France
3. Génétique Médicale, CHU de Nantes, 44000 Nantes, France, Nantes, France
4. Génétique Médicale, CHU de Grenoble, F--38000 Grenoble, France, grenoble, France

**Mots clefs :** Arthrogryposis multiple congenita, PIEZO2

**Résumé :**

**Introduction:** Arthrogryposis multiplex congenita (AMC) is characterized by multiple congenital contractures at birth of at least two joint levels. Mutations of the mechanoreceptor coding gene *PIEZO2* have recently been linked to a distinct form of AMC, called distal arthrogryposis type 5 (DA5), to Gordon syndrome (AMC + cleft palate), and to Marden-Walker syndrome (AMC + cleft palate + cerebellar malformation + intellectual disability).

**Patients and Method:** We performed a selected gene panel analysis for neuromuscular arthrogryposis linked genes in our cohort of over 100 families or sporadic cases with AMC. All cases with a clinical diagnosis of amyoplasia were excluded.

**Results:** We identified seven mutations in *PIEZO2* in two familial cases and five sporadic patients. Three of the mutations were novel. The mutations located either in the C-terminal domain or in predicted transmembrane domains of the protein Piezo2. Phenotypic analysis of all patients confirmed previously suggested major clinical findings such as ophthalmoplegia (10/10), blepharophimosis (10/10), and elbow and knee flexion contractures (10/10). We further frequently found restrictive lung disease (4/8) even in the absence of scoliosis or kyphosis, and low body-mass indexes ( $\leq -2SD$  ; 8/10). When present, muscle cramps and firm muscle consistency (3/8), very large and deep skin dimples (3/8), and clubbed toes or fingers since birth (3/8) seemed to be non-constant but helpful clinical indicators for *PIEZO2* involvement because these findings are very rarely found in other forms of arthrogryposis. One patient presented with a particularly severe form. She had had very low Apgar scores at birth (2/6), severe sucking and swallowing difficulties leading to enteral nutrition via a gastrostomy, severe kyphoscoliotic spine deformation but normal intellectual development by age 5 years.

**Conclusion:** The presence of ophthalmoplegia, blepharophimosis, firm muscle consistency, large deep dimples and clubbed toes in patients with arthrogryposis should prompt molecular analysis of *PIEZO2*. No genotype-phenotype correlation could be drawn from current data.

**#3592 : Implication des noyaux gris centraux chez les patients présentant une mutation du gène ARX:  
une explication à leur préhension très particulière?**

**Auteurs :**

Aurore Curie (1), Gaëlle Friocourt (2), Vincent des Portes (1), Alice Roy (3), Tatjana Nazir (3), Amandine Brun (3), Pascale Marcorelles (2), Kalliroi Retzepi (4), Nasim Maleki (4), Gérald Bussy (3), Yves Paulignan (3), Anne Reboul (3), Nouchine Hadjikhani (4), Annie Laquerrière (2), Randy Gollub (4)

1. neuropédiatrie, HFME, HCL, Lyon, France
2. UMR1078, Inserm, Brest, France
3. L2C2, ISC, CNRS UMR5304, CNRS, Lyon, France
4. Martinos Center for Biomedical Imaging, , MGH/Harvard Medical School, Boston, Etats-Unis

**Mots clefs :** ARX, Déficience Intellectuelle, IRM morphométrique, immunohistochimie, cinématique

**Résumé :**

Ces dix dernières années, de nombreuses études ont montré qu'un dysfonctionnement du système GABAergique était à l'origine d'une grande variété de troubles du neurodéveloppement, incluant l'autisme et la Déficience Intellectuelle (DI). Le gène *ARX* (*Aristaless Related homeobox*) a été identifié en 2002 comme étant responsable chez l'homme d'une malformation corticale rare et sévère, le syndrome XLAG (X-linked Lissencephaly associated with Abnormal Genitalia, OMIM 300215), caractérisé par une quasi-absence d'interneurones GABAergiques corticaux. Depuis, *ARX* a été également associé à des formes plus modérées de DI Liée à l'X sans malformation cérébrale apparente.

Afin de mieux comprendre le rôle d'*ARX* dans le développement et le fonctionnement des interneurones GABAergiques, nous avons choisi d'étudier la mutation de ce gène la plus fréquemment identifiée (c.429\_452dup24) une duplication de 24 paires de bases conduisant à une expansion de polyalanines et à un phénotype relativement modéré, plus facilement explorable qu'un phénotype très sévère comme XLAG. Une étude clinique détaillée de 27 patients *ARX* a montré que cette mutation constituait un syndrome clinique reconnaissable, associant DI, une apraxie motrice distale des membres supérieurs avec une préhension pathognomonique (Curie et al., 2014). Nous avons réalisé une analyse en IRM cérébrale avec le logiciel FreeSurfer chez 13 patients *ARX* comparés à 13 sujets sains appariés en âge et en sexe, et avons pu définir un profil neuroanatomique spécifique à la mutation c.429\_452dup24. Les patients *ARX* ont une diminution significative du volume du striatum (particulièrement des noyaux caudés), associée à une diminution d'épaisseur corticale du gyrus précentral. Nous avons confirmé en immunohistochimie sur des cerveaux humains fœtaux et adultes qu'*ARX* était fortement exprimé dans ces structures. Par ailleurs, il existe une corrélation significative entre le volume des noyaux caudés et le degré d'atteinte motrice: plus les noyaux caudés étaient petits, plus le paramètre cinématique d'un mouvement de préhension était altéré.

Les noyaux gris centraux (NGC) sont impliqués dans la régulation sensorimotrice et tout particulièrement dans le contrôle d'une préhension de précision. La diminution conjointe de l'épaisseur corticale du cortex primaire sensorimoteur et du volume des NGC observée chez les patients *ARX* est vraisemblablement impliquée dans le phénotype moteur spécifique de ces patients qui est similaire à celui de l'apraxie cinétique des membres (LKA) (Curie et al., 2014). Dans la dégénérescence corticobasale, la LKA est liée à la perte des interneurones corticaux inhibiteurs du lobe frontal ou des NGC. Comme *ARX* est important pour le développement et la fonction des interneurones GABAergiques inhibiteurs dans le cortex et le striatum (Friocourt et al., 2008; [Olivetti and Noebels, 2012](#)), une dysfonction de ces neurones pourrait expliquer l'atteinte motrice des patients *ARX*.

#3623 : Profil neuropsychologique et neuroanatomique chez 17 patients français présentant une cystinose.

**Auteurs :**

Aurore Curie (1)

1. neuropédiatrie, HFME, HCL, Lyon, France

**Résumé :**

**Introduction:** La cystinose est une maladie lysosomale héréditaire rare, liée au déficit du transporteur de la cystine conduisant à une accumulation progressive de cystine dans les tissus. La tubulopathie proximale est l'un des premiers signes, évoluant vers l'insuffisance rénale terminale vers l'âge de 12 à 16 ans. D'autres atteintes apparaissent plus tardivement : endocriniennes, neurologiques et une myopathie. La cystéamine donnée précocement permet de retarder ces complications, allongeant l'espérance de vie. L'atteinte neurologique plus tardive demeure mal connue et évaluée. L'objectif de cette étude est de mieux comprendre le profil neuropsychologique et neuroanatomique lié à la cystinose.

**Matériel et Méthodes:** 17 patients âgés en moyenne de 17.6 ans [5.4-33.3] et présentant une cystinose ont été inclus dans l'étude. Une évaluation du fonctionnement intellectuel (échelle de Wechsler adaptée à l'âge), de la mémoire (Children Memory Scale et Wechsler Memory Scale), et des capacités visuo-spatiales (figures de Rey) et visuo-perceptuelles ont été réalisées. 16 patients sur 17 ont effectué une IRM cérébrale 3T (comprenant 3D T1 haute résolution, FLAIR, DTI, et spectroscopie).

**Résultats:** L'efficacité intellectuelle des patients présentant une cystinose est normale (QI total moyen=100). Mais l'Indice de Raisonnement Perceptif (moyenne=87, [63-109]) est significativement plus bas que l'Indice de Compréhension Verbale (moyenne=100, [59-138],  $p=0.003$ ). L'évaluation des capacités mnésiques de ces patients révèle des capacités dans la norme, sans dissociation entre mémoire visuelle et verbale. Par contre, il existe une altération significative de la mémoire de travail par rapport aux capacités mnésiques générales ( $p=0.003$ ). L'évaluation de leurs capacités visuospatiales montre un score en copie et en rappel pour la figure de Rey inférieur au 50<sup>ème</sup> percentile dans plus de 70% des cas. L'IRM révèle une atrophie cortico-sous corticale à prédominance pariéto-occipitale.

**Conclusion:** Les patients ayant une cystinose ont un profil neuropsychologique et neuroanatomique spécifique, dont la meilleure connaissance devrait améliorer leur prise en charge.

---

**POSTERS** GÉNÉTIQUE FORMELLE, GÉNÉTIQUE DES POPULATIONS  
ET MALADIES COMPLEXES

---

## GÉNÉTIQUE FORMELLE, GÉNÉTIQUE DES POPULATIONS ET MALADIES COMPLEXES

### #2277 : Rôle des Gènes nucléaires à fonction mitochondriale POLG, Twinkle et ANT1 dans le Diabète Mitochondrial

#### Auteurs :

Mariem Fourati (1), Mariem Fourati (2), Najla Mezghani (2), Faiza Fakfakh (3)

1. Laboratoire de Génétique Moléculaire Humaine, Faculté de Médecine de Sfax Université de Sfax, sfax, Tunisie
2. Laboratoire de Génétique Moléculaire Humaine, Faculté de Médecine de Sfax Université de Sfax, sfax, Tunisie
3. Laboratoire de Génétique Moléculaire Humaine, Faculté de Médecine de Sfax Université de Sfax, Sfax, Tunisie

**Mots clefs :** Diabète mitochondrial, ADN mitochondrial, chaîne respiratoire, glucose, gènes nucléaires POLG, Twinkle et ANT1

#### Résumé :

Les maladies mitochondriales sont très variables, elles peuvent toucher plusieurs organes comme le pancréas en cas de diabète. Le dénominateur commun de ces maladies est le dysfonctionnement de la chaîne respiratoire, jouant un rôle essentiel dans la stimulation de la sécrétion d'insuline et la régulation du taux du glucose sanguin. Ce déficit peut être dû à des anomalies liées à l'ADN nucléaire vu que 80% des protéines mitochondriales sont codées par l'ADN nucléaire. De ce fait, plusieurs gènes nucléaires sont responsables du diabète mitochondrial. On note spécifiquement les gènes *POLG* (la seule polymérase gamma), *Twinkle* (la hélicase) et *ANT1* (Translocation d'ADP en ATP) qui sont impliqués dans la chaîne respiratoire mitochondriale et responsables de la réplication de l'ADN mitochondrial.

En effet, Le glucose pénétrant via un transporteur spécifique dans la cellule bêta, sera métabolisé par glycolyse en pyruvate qui sera lui-même métabolisé par oxydation dans la mitochondrie (par le cycle de Krebs). Cette oxydation va former de l'énergie chimique sous forme d'ATP. Cette augmentation de l'ATP intracellulaire va favoriser la fermeture d'un canal potassique qui dépolarise la membrane cellulaire et l'ouverture d'un canal calcique permettant au calcium de pénétrer dans la cellule. L'augmentation de calcium intracellulaire va déclencher la sécrétion d'insuline. De telles façons lorsque les mitochondries ne fonctionnent pas bien, la production d'ATP va être réduite et la sécrétion d'insuline sera moins vigoureuse.

Nous voulons enfin confirmer la présence d'une éventuelle corrélation entre les mutations et polymorphismes seront trouvés dans les gènes étudiés et les dysfonctionnements de l'ADN mitochondrial.

## GÉNÉTIQUE FORMELLE, GÉNÉTIQUE DES POPULATIONS ET MALADIES COMPLEXES

#2288 : Association d'un haplotype au niveau du gène SCN1A avec le syndrome DRAVET

### Auteurs :

abir Garraoui (1), fatma Kammoun (2), Nourhène Fendri (1), laila Keskes-Ammar (3), chahnez triki triki (2), faiza fakhfakh (1)

1. Laboratoire de génétique moléculaire humaine , faculté des sciences sfax, sfax, Tunisie
2. Service de Pédiatrie CHU Hedi Chaker Sfax, faculté de médecine sfax, sfax, Tunisie
3. Laboratoire de génétique moléculaire humaine , faculté de médecine sfax, Sfax, Tunisie

**Mots clefs :** Epilepsie, Dravet, SCN1A, Haplotype, SMEI, SNP

### Résumé :

Le syndrome Dravet(SD) ou épilepsie myoclonique sévère du nourrisson, est l'une des formes les plus graves de l'épilepsie de l'enfant. SD peut être causé par des mutations dans le canal sodium gène alpha unité neuronale voltage dépendant (SCN1A)

Cependant 25 à 30 % des patients atteints de DS ne présente pas de mutation dans le gène SCN1A ce qui suggère l'implication d'autres gènes candidats tel que SCN1B.

Nous nous sommes intéressés lors de ce travail à la recherche des mutations ou des polymorphismes dans les gènes *SCN1A* et *SCN1B* chez un patient atteint de syndrome de Dravet.

Les régions exoniques et introniques flanquant des gènes *SCN1A* et *SCN1B* ont été amplifiées par PCR et ensuite par séquençage. Les analyses des séquences des deux gènes trouvés chez le patient étudié n'ont montré aucune mutation. Cependant 11 SNP ont été identifiés dans un état homozygote chez le patient : Une variante rs566839 A > T a été révélée dans la région non traduite (5'UTR) de l'exon 1. Trois variations exoniques ont été détectées : RS7580482 (A > G) dans l'exon 9 (Val404Val), RS6432860(T > C) dans l'exon 13 (Val753Val) et RS2298771 (G > A) l'exon 16 (Ala1056Thr). Sept polymorphismes introniques ont également été révélés : RS3812718 (G > A) dans l'intron 4, rs994399 (C > T) dans l'intron 6, deux SNP rs1542484 (T > C) et rs1461193

(C > T) dans l'intron 7, RS11690959 (C > T) dans l'intron 8, RS6432861 (G > A) dans l'intron 9 et RS7601520 SNP (C > T) dans l'intron 15. Ces SNP correspondent à un haplotype de susceptibilité impliqué dans ce syndrome.

De plus deux autres variations introniques (c.1663-47T > G et c.2416-37A > C ) ont été trouvées à l'état homozygote. L'analyse bio-informatique a montré que ces variations ont un effet sur l'épissage, elles pourraient créer de nouveaux sites de fixation des protéines d'épissage « SC35&SF2/ASF » et augmenter l'affinité d'une séquence enhancer à une des protéines «SRP40 » selon human splicing finder & ESE finder.

## GÉNÉTIQUE FORMELLE, GÉNÉTIQUE DES POPULATIONS ET MALADIES COMPLEXES

### #2345 : Common variants on Xq28 conferring risk for Rheumatoid Arthritis in samples of Tunisian and French populations

#### Auteurs :

KHALIFA Olfa (1), Nathalie BALANDRAUD (2), Nathalie BALANDRAUD (2), Isabelle AUGER (2), Jean ROUDIER (2), Audrey SÉNÉCHAL (3), David GENEVIÈVE (4), Christophe PICARD (5), Gérard LEFRANC (6), Isabelle TOUITOU (7), Bakridine M'MADI MRENDI (8), Etienne PARDOUX (8), Anne-laure GAGEZ (9), Yves-Marie PERS (1), Christian JORGENSEN (1), MAHJOUB Touhami (10), Florence APPARAILLY (1)

1. , Inserm, U 1183, Institute for Regenerative Medicine and Biotherapies, CHU Saint Eloi, 80 Avenue Augustin Fliche, 34295 Montpellier cedex 5, France, Montpellier, France
2. , Inserm UMRs 1097, Aix-Marseille University, Marseille, France, Marseille, France
3. , Inserm, U1051, University Hospital Saint Eloi, Institute for Neurosciences Montpellier, France, Montpellier, France
4. , Department of Clinical Genetics, University Hospital of Montpellier, France, Montpellier, France
5. , Aix-Marseille Université, CNRS, EFS, ADES UMR 7268, 13916, Marseille, France, Marseille, France
6. , University of Montpellier, Boulevard Henri IV, 34090 Montpellier, France, Montpellier, France
7. Array, Department of Molecular Genetics, University Hospital of Montpellier, France, Array, France
8. , Aix-Marseille University, CNRS, Centrale Marseille, I2M, UMR 7373 13453 Marseille, France, Marseille, France
9. , CNRS UMR 5235, Université de Montpellier, Montpellier, France, Montpellier, France
10. , Laboratory of Human Genome and Multifactorial diseases, University of Monastir, Faculty of Pharmacy, Monastir, Tunisie., Monastir , France

**Mots clefs :** Xq28, polymorphisms, Rheumatoid arthritis

#### Résumé :

**Objective.** Among risk loci associated with rheumatoid arthritis (RA) susceptibility, *IRAK1* was the first X chromosome locus reported and is thus of importance given the female predominance of the disease. Recently, several polymorphisms in the *IRAK1* locus have been identified in the Korean population. Here, we aimed at investigating the association between three critical polymorphisms in the Xq28 region containing *IRAK1* (rs13397, rs1059702 and rs1059703) in two unstudied populations: Tunisian and French.

**Methods:** A case-control study of 408 RA women and 471 healthy age-matched controls was conducted in Tunisian and French subjects. All RA patients were anti-citrullinated peptide antibodies (ACPA) positive. The genotype distribution, haplotype analysis, and the linkage disequilibrium (LD) of polymorphisms were analysed using the Bayesian statistical method, PLINK 1.07 and Haploview 4.2 softwares, respectively.

**Results:** The rs13397 G and rs1059703 T major alleles were significantly increased in RA patients compared with controls in both Tunisian and French women. The two variants were in strong linkage disequilibrium in the Tunisian, but not in the French cohort. There were 4 haplotypes with a frequency higher than 5%, constructed from the Xq28 polymorphisms that evidenced ethnical differences. The GTC haplotype displayed a protective effect against RA, while the ATC, GCC and GTT haplotypes conferred significant risk for RA in the French population. All the 4 detected haplotypes displayed however neutral effect in the Tunisian population.

**Conclusion:** Our case-control study replicated for the first time the association of the three Xq28 chromosomal region polymorphisms with RA risk in Tunisian and French populations, and suggested that RA susceptibility is associated with *IRAK1* polymorphisms in women. These data further support the involvement of X chromosome in RA susceptibility, evidencing however ethnicities differences.

## GÉNÉTIQUE FORMELLE, GÉNÉTIQUE DES POPULATIONS ET MALADIES COMPLEXES

### #2346 : Common variants on Xq28 conferring risk for Rheumatoid Arthritis in samples of Tunisian and French populations

#### Auteurs :

KHALIFA Olfa (1), Nathalie BALANDRAUD (2), Nathalie LAMBERT (2), Isabelle AUGER (2), Jean ROUDIER (2), Audrey SÉNÉCHAL (3), David GENEVIÈVE (4), Christophe PICARD (5), Gérard LEFRANC (6), Isabelle TOUITOU (7), Bakridine M'MADI MRENDI (8), Etienne PARDOUX (8), Anne-laure GAGEZ (9), Yves-Marie PERS (1), Christian JORGENSEN (1), MAHJOUR Touhami (10), Florence APPARAILLY (1)

1. , Inserm, U 1183, Institute for Regenerative Medicine and Biotherapies, CHU Saint Eloi, 80 Avenue Augustin Fliche, 34295 Montpellier cedex 5, France, Montpellier, France
2. , Inserm UMRs 1097, Aix-Marseille University, Marseille, France, Marseille, France
3. , Inserm, U1051, University Hospital Saint Eloi, Institute for Neurosciences Montpellier, France, Montpellier, France
4. , Department of Clinical Genetics, University Hospital of Montpellier, France, Montpellier, France
5. , Aix-Marseille Université, CNRS, EFS, ADES UMR 7268, 13916, Marseille, France, Marseille, France
6. , University of Montpellier, Boulevard Henri IV, 34090 Montpellier, France, Montpellier, France
7. Array, Department of Molecular Genetics, University Hospital of Montpellier, France, Array, France
8. , Aix-Marseille University, CNRS, Centrale Marseille, I2M, UMR 7373 13453 Marseille, France, Marseille, France
9. , CNRS UMR 5235, Université de Montpellier, Montpellier, France, Montpellier, France
10. , Laboratory of Human Genome and Multifactorial diseases, University of Monastir, Faculty of Pharmacy, Monastir, Tunisie., Monastir , France

**Mots clefs :** Xq28, polymorphisms, Rheumatoid arthritis

#### Résumé :

**Objective.** Among risk loci associated with rheumatoid arthritis (RA) susceptibility, *IRAK1* was the first X chromosome locus reported and is thus of importance given the female predominance of the disease. Recently, several polymorphisms in the *IRAK1* locus have been identified in the Korean population. Here, we aimed at investigating the association between three critical polymorphisms in the Xq28 region containing *IRAK1* (rs13397, rs1059702 and rs1059703) in two unstudied populations: Tunisian and French.

**Methods:** A case-control study of 408 RA women and 471 healthy age-matched controls was conducted in Tunisian and French subjects. All RA patients were anti-citrullinated peptide antibodies (ACPA) positive. The genotype distribution, haplotype analysis, and the linkage disequilibrium (LD) of polymorphisms were analysed using the Bayesian statistical method, PLINK 1.07 and Haploview 4.2 softwares, respectively.

**Results:** The rs13397 G and rs1059703 T major alleles were significantly increased in RA patients compared with controls in both Tunisian and French women. The two variants were in strong linkage disequilibrium in the Tunisian, but not in the French cohort. There were 4 haplotypes with a frequency higher than 5%, constructed from the Xq28 polymorphisms that evidenced ethnic differences. The GTC haplotype displayed a protective effect against RA, while the ATC, GCC and GTT haplotypes conferred significant risk for RA in the French population. All the 4 detected haplotypes displayed however neutral effect in the Tunisian population.

**Conclusion:** Our case-control study replicated for the first time the association of the three Xq28 chromosomal region polymorphisms with RA risk in Tunisian and French populations, and suggested that RA susceptibility is associated with *IRAK1* polymorphisms in women. These data further support the involvement of X chromosome in RA susceptibility, evidencing however ethnic differences.

## GÉNÉTIQUE FORMELLE, GÉNÉTIQUE DES POPULATIONS ET MALADIES COMPLEXES

### #2347 : Association of REL Locus with Rheumatoid Arthritis Susceptibility in Tunisian and French populations

#### Auteurs :

KHALIFA Olfa (1), Nathalie BALANDRAUD (2), Nathalie LAMBERT (2), Isabelle AUGER (2), Jean ROUDIER (2), Audrey SÉNÉCHAL (3), David GENEVIÈVE (4), Bakridine M'MADI MRENDI (5), Etienne PARDOUX (5), Christophe PICARD (6), Christian JORGENSEN (1), MAHJOUR Touhami (7), Florence APPARAILLY (1)

1. , Inserm, U 1183, Institute for Regenerative Medicine and Biotherapies, CHU Saint Eloi, 80 Avenue Augustin Fliche, 34295 Montpellier cedex 5, France, Montpellier, France
2. , Inserm UMRs 1097, Aix-Marseille University, Marseille, France, Marseille, France
3. , Inserm, U1051, University Hospital Saint Eloi, Institute for Neurosciences Montpellier, France, Montpellier, France
4. , Department of Clinical Genetics, University Hospital of Montpellier, France, Montpellier, France
5. , Aix-Marseille University, CNRS, Centrale Marseille, I2M, UMR 7373 13453 Marseille, France, Marseille, France
6. , Aix-Marseille Université, CNRS, EFS, ADES UMR 7268, 13916, Marseille, France, Marseille, France
7. , Laboratory of Human Genome and Multifactorial diseases, University of Monastir, Faculty of Pharmacy, Monastir, Tunisie., Monastir , France

**Mots clefs :** REL, polymorphisms, Rheumatoid arthritis

#### Résumé :

**Objective:** Rheumatoid arthritis (RA) is a systemic autoimmune disease characterized by a chronic destructive inflammation in synovial joints. Genetic and environmental factors are likely to contribute etiologically to RA pathogenesis. Genome-wide association studies (GWAS) have identified dozen genes associated with RA among which REL, a member of the NF- $\kappa$ B family of transcription factors. A strong association at the REL locus was found in North American population. The present study aimed at investigating the association between 2 critical polymorphisms in the REL locus (rs13031237 and rs13017599) and RA susceptibility in two novel populations: Tunisian and French. In addition, our study aimed at comparing the differences in genotypic distribution in both populations.

**Methods:** A case-control study of 493 RA patients and 507 healthy controls age and sex matched was conducted in both Tunisian and French. All RA patients were ACPA positive. DNA was isolated from total blood using standard phenol chloroform method. All subjects were genotyped for both polymorphisms using a direct sequencing with the BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems). The genotype distribution, haplotype analysis, and the linkage disequilibrium (LD) were analysed using the Bayesian method, and PLINK 1.07 and Haploview 4.2 softwares, respectively.

**Results:** The genotype distribution of the rs13031237 and rs13017599 polymorphism respected Hardy-Weinberg equilibrium both in Tunisian and French populations. These two SNPs showed a strong association only in Tunisian cohort ( $p=7.8e-4$ ,  $1.0e-6$ ) respectively, the genotype GG for the rs13031237 and the genotype CC for the rs13017599 representing a protective factor for RA in Tunisian population (OR=0.49, 95% CI=0.15-0.73)- (OR=0.25, 95% CI=0.07-0.37) respectively.

Linkage disequilibrium between both SNPs was strong ( $D=35$  and  $46$ ) between the two variants in Tunisian and French population). There were 4 haplotypes with a frequency higher than 5%, constructed from the REL locus polymorphism. Haplotype H1 (TT), H3 (TC) and H4 (GC) were associated with increased risk for RA, whereas the haplotype H2 (GT) was significantly associated with a decreased risk for RA ( $p < 0.001$ ). Analysis of the genotypic distribution of the rs13017599 polymorphism was however inconclusive.

**Conclusion:** Our prospective case-control study replicated for the first time the association of the rs13031237 and rs13017599 at the REL locus with RA risk, in an independent cohort from Tunisia. We also identified haplotypes closely associated with disease risk.

## GÉNÉTIQUE FORMELLE, GÉNÉTIQUE DES POPULATIONS ET MALADIES COMPLEXES

### #2348 : Association of REL Locus with Rheumatoid Arthritis Susceptibility in Tunisian and French populations

#### Auteurs :

Nathalie BALANDRAUD (1), KHALIFA Olfa (2), Nathalie LAMBERT (3), Jean ROUDIER (1), David GENEVIÈVE (4), Gérard LEFRANC (5), Bakridine M'MADI MRENDA10 (6), Etienne PARDOUX (6), Yves-Marie PERS (2), Christian JORGENSEN (2), MAHJOUB Touhami (7), Florence APPARAILLY (2)

1. , Inserm UMRs 1097, Aix-Marseille University, Marseille, France, Marseille, France
2. , Inserm, U 1183, Institute for Regenerative Medicine and Biotherapies, CHU Saint Eloi, 80 Avenue Augustin Fliche, 34295 Montpellier cedex 5, France, Montpellier, France
3. , , Marseille, France
4. , Department of Clinical Genetics, University Hospital of Montpellier, France, Montpellier, France
5. , University of Montpellier, Boulevard Henri IV, 34090 Montpellier, France, Montpellier, France
6. , Aix-Marseille University, CNRS, Centrale Marseille, I2M, UMR 7373 13453 Marseille, France, Marseille, France
7. , Laboratory of Human Genome and Multifactorial diseases, University of Monastir, Faculty of Pharmacy, Monastir, Tunisie., Monastir , France

**Mots clefs :** REL, polymorphisms, Rheumatoid arthritis

#### Résumé :

**Objective:** Rheumatoid arthritis (RA) is a systemic autoimmune disease characterized by a chronic destructive inflammation in synovial joints. Genetic and environmental factors are likely to contribute etiologically to RA pathogenesis. Genome-wide association studies (GWAS) have identified dozen genes associated with RA among which REL, a member of the NF- $\kappa$ B family of transcription factors. A strong association at the REL locus was found in North American population. The present study aimed at investigating the association between 2 critical polymorphisms in the REL locus (rs13031237 and rs13017599) and RA susceptibility in two novel populations: Tunisian and French. In addition, our study aimed at comparing the differences in genotypic distribution in both populations.

**Methods:** A case-control study of 493 RA patients and 507 healthy controls age and sex matched was conducted in both Tunisian and French. All RA patients were ACPA positive. DNA was isolated from total blood using standard phenol chloroform method. All subjects were genotyped for both polymorphisms using a direct sequencing with the BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems). The genotype distribution, haplotype analysis, and the linkage disequilibrium (LD) were analysed using the Bayesian method, and PLINK 1.07 and Haploview 4.2 softwares, respectively.

**Results:** The genotype distribution of the rs13031237 and rs13017599 polymorphism respected Hardy-Weinberg equilibrium both in Tunisian and French populations. These two SNPs showed a strong association only in Tunisian cohort ( $p=7.8e-4$ ,  $1.0e-6$ ) respectively, the genotype GG for the rs13031237 and the genotype CC for the rs13017599 representing a protective factor for RA in Tunisian population (OR=0.49, 95% CI=0.15-0.73)- (OR=0.25, 95% CI=0.07-0.37) respectively.

Linkage disequilibrium between both SNPs was strong ( $D=35$  and  $46$ ) between the two variants in Tunisian and French population). There were 4 haplotypes with a frequency higher than 5%, constructed from the REL locus polymorphism. Haplotype H1 (TT), H3 (TC) and H4 (GC) were associated with increased risk for RA, whereas the haplotype H2 (GT) was significantly associated with a decreased risk for RA ( $p < 0.001$ ). Analysis of the genotypic distribution of the rs13017599 polymorphism was however inconclusive.

**Conclusion:** Our prospective case-control study replicated for the first time the association of the rs13031237 and rs13017599 at the REL locus with RA risk, in an independent cohort from Tunisia. We also identified haplotypes closely associated with disease risk.

## GÉNÉTIQUE FORMELLE, GÉNÉTIQUE DES POPULATIONS ET MALADIES COMPLEXES

#2353 : Etude de la consanguinité dans la population du nord du maroc.

### Auteurs :

Lamiaa Habibeddine (1), Mohamed Wardani (2), Rachid Aboukhalid (1), Hicham El osamni (3), Said Amzazi (1), Abderrahime Abouali (2), Jalal Talbi (4)

1. biochimie-immunologie, Faculté des sciences Agdal Rabat, Rabat, Maroc
2. génétique et biotechnologie , faculté des sciences Oujda, Oujda, Maroc
3. génétique, gendarmerie royale du Maroc, Rabat, Maroc
4. Laboratoire de Police Scientifique, Sûreté nationale, Casablanca, Maroc

**Mots clefs :** Consanguinité, Anthropogénétique, Maroc, Population du nord

### Résumé :

La consanguinité est un comportement matrimonial très perpétué dans le monde Arabo-musulman. Ce comportement contribue à l'appauvrissement du patrimoine génétique des populations en augmentant l'homogénéité génétique, influençant, ainsi, l'état de la santé publique. Faisant partie du monde Arabo-musulman, la population du nord du Maroc n'a jamais été étudiée pour y caractériser ce comportement matrimonial de point de vue anthropogénétique.

Dans le présent travail, un échantillon de 1458 couples appartenant à trois générations différentes de la population du nord du Maroc a été étudié. Les résultats soulignent un niveau de consanguinité très proche de la moyenne nationale (24.20%). Les mariages entre cousins issus de germains est le plus répandu parmi les couples consanguins (48%). Par ailleurs, des traits spécifiques semblent caractériser la pratique de la consanguinité dans la région du nord du Maroc répondant, ainsi, à plusieurs facteurs d'ordre socio-économique, culturel, historique et géographique.

## GÉNÉTIQUE FORMELLE, GÉNÉTIQUE DES POPULATIONS ET MALADIES COMPLEXES

#2581 : Mitochondrial DNA and nuclear genes investigation in patients with mitochondrial diseases

### Auteurs :

Marwa Maalej (1), Emna Rebai-Mkaouar (1), Fatma Kammoun (2), Leila Keskes (1), Chanez Triki (2), Faiza FAKHFAKH (3)

1. Laboratoire de génétique moléculaire humaine , Faculté de médecine sfax, SFAX, Tunisie
2. Service de Neuropédiatrie, CHU Hédi Chaker de sfax, SFAX, Tunisie
3. Département de science de vie , Faculté des sciences de sfax, SFAX, Tunisie

**Mots clefs :** c10orf2, POLG, FXN, MT-DNA

### Résumé :

Mitochondrial DNA diseases are caused by mutations either in the mitochondrial or nuclear genomes genes. Although mitochondrion has its own mitochondrial DNA (mtDNA), nuclear DNA (nDNA) encodes the majority of mitochondrial proteins, including those involved in the mtDNA replication and transcription. As a consequence of this, several mutations of nDNA genes essential for mtDNA maintenance which subsequently cause mtDNA point mutations, multiple deletions or mtDNA depletion. Genes encoding the DNA helicase TWINKLE (C10orf2) or the two subunits of mtDNA polymerase (POLg) (POLG and POLG2), have a direct effect on the mitochondrial DNA replication machinery and were reported in many mitochondrial disorders. In the present study we screened mitochondrial genes and nuclear genes including c10orf2, POLG1, FXN and TTPA genes in patients with mitochondrial diseases including, myopathy, encephalomyopathy and ataxia. The results showed the absence of the expansion of a GAA triplet repeat in intron 1 of the FXN gene in patients with spinocerebellar ataxia. Besides, the sequencing of all the exons and their flanking regions of the FXN, POLG1 and C10orf2 genes revealed the presence of variations in exonic, intronic and untranslated regions. In addition, screening of the mtDNA revealed the absence of mitochondrial deletions in all patients and the presence of several mitochondrial known and novel variations. In silico analysis was also performed to predict the effect of the detected nuclear and mitochondrial variations and result revealed that some of them could be pathogenic.

## GÉNÉTIQUE FORMELLE, GÉNÉTIQUE DES POPULATIONS ET MALADIES COMPLEXES

#2598 : Recherche de gènes associés à l'eczéma dans des familles d'asthmatiques par une approche

### Auteurs :

Marie-Claude Babron (1), Patricia Margaritte-Jeannin (1), Nolwenn Lavielle (1), Myriam Brossard (1), Chloé Sarnowski (1), Lucile Pain (2), Jocelyne Just (3), Emmanuelle Bouzigon (1), Catherine Laprise (2), Florence Demenais (1), Marie-Hélène Dizier (1)

1. UMR946, INSERM, Paris, France
2. , Université du Québec à Chicoutimi, Chicoutimi, Canada
3. Service d'Allergologie Pédiatrique, Hôpital d'Enfants Armand-Trousseau (APHP), Paris, France

**Mots clefs :** eczéma , gène candidat, association

### Résumé :

L'eczéma ou la dermatite atopique est une maladie inflammatoire chronique de la peau à composante allergique. Cette maladie est fortement liée à l'asthme, une autre maladie allergique. Certains gènes associés à l'eczéma ont déjà été détectés, ils ne permettent cependant pas d'expliquer entièrement la composante familiale. En effet la plupart des études ont été effectuées par analyse d'association simple marqueur (SNP) et non au niveau des gènes et en ignorant la possibilité d'interaction entre SNPs.

Notre but est de rechercher de nouveaux gènes impliqués dans l'eczéma par d'autres méthodes statistiques et une approche « gènes candidats ». Pour cela deux groupes de gènes candidats ont été sélectionnés à partir de la base Gene Ontology, le premier par une recherche avec le mot clef « collagen » et le deuxième avec les termes « skin or epidermis ».

Cette recherche s'est effectuée sur un échantillon de familles d'origine européenne, recrutées à partir de sujets asthmatiques, comprenant 388 familles françaises de l'étude EGEA et 253 familles de l'étude SLSJ et incluant au total 719 et 1926 individus avec ou sans eczéma.

Différentes approches sont utilisées dont des analyses de régressions logistiques pour rechercher des associations et des interactions entre des SNPs et l'eczéma. Les analyses d'interaction se font entre des SNPs appartenant au même gène (interaction intra-gène). L'autre approche utilisée est une extension de la méthode SKAT développée pour des données familiales (Schaid et al, 2013), qui considère conjointement l'information apportée par un ensemble de SNPs, appartenant à un gène ou à un groupe de gènes.

Le groupe de gènes lié à l'épiderme ou la peau n'est pas montré associé à l'eczéma ( $P=0.2$  ;  $P=0.4$  en corrigeant sur les 2 groupes de gènes) par la méthode SKAT. Celle-ci permet par contre de détecter une association significative avec le groupe de gènes lié au collagène ( $P=0.002$  ;  $P=0.004$  après correction), et de montrer qu'un gène à l'intérieur de ce groupe est significativement associé à l'eczéma ( $P=0.0001$  ;  $P=0.01$  en corrigeant pour les 97 gènes considérés). Les analyses de régression logistique montrent que le SNP le plus fortement associé à l'eczéma ( $P=0.0008$ ) appartient à ce même gène, même si le résultat n'est plus significatif après correction pour le nombre de tests. De même la recherche d'interaction intra-gène montre que celui-ci fait partie des 5 premiers gènes donnant les plus fortes interactions (non significatives après correction).

L'ensemble de ces résultats indique un rôle possible de ce gène dans l'eczéma et souligne l'intérêt de la méthode SKAT qui teste l'association au niveau d'un gène ou d'un groupe de gènes. D'autres analyses de type « gene-based » et utilisant les scores d'association et d'interaction intra-gène seront effectuées pour confirmer l'effet de ce gène.

## GÉNÉTIQUE FORMELLE, GÉNÉTIQUE DES POPULATIONS ET MALADIES COMPLEXES

### #2607 : Coblance une cohorte prospective sur les cancers de vessie

#### Auteurs :

Karine Groussard (1), Yves Allory (2), Julia Bonastre (3), Thierry Lebret (4), François Radvanyi (5), Simone Benhamou (1)

1. UMR946, INSERM, Paris, France
2. UPEC/IMRB U955 , Hopital Henri Mondor, Créteil, France
3. Service biostatistique et épidémiologie , Gustave Roussy, Villejuif, France
4. Service Urologie , Hôpital Foch, Suresnes, France
5. UMR144, Institut Curie , Paris, France

**Mots clefs :** cancer de la vessie, épidémiologie, économie de la santé, génétique, environnement, qualité de vie

#### Résumé :

Le cancer de la vessie représente la 6ème cause de cancer en Europe et la 2ème cause de cancer de l'appareil urinaire. En dépit de son incidence élevée, très peu d'études ont été réalisées sur ce cancer, notamment sur l'identification de cibles thérapeutiques et de biomarqueurs théranostiques, et sur l'évaluation coût/efficacité des traitements. Cette évaluation est particulièrement importante dans la mesure où le cancer de la vessie est des cancers les plus coûteux à traiter, accompagné de longues périodes de suivi, de taux élevés de récurrences, d'interventions chirurgicales multiples et de surveillance invasive. Jusqu'à présent, aucun traitement ciblé efficace et aucun marqueur prédictif de récurrence ou de progression de la maladie n'ont été identifiés. Le tabac et certaines expositions professionnelles aux amines aromatiques sont des facteurs de risque établis de cancer de la vessie ; cependant, leur rôle dans la survenue de la maladie dépend probablement de facteurs génétiques et/ou épigénétiques.

Le consortium COBLAnCE constitue actuellement une cohorte prospective de 2000 patients nouvellement diagnostiqués pour un cancer de vessie et suivis pendant 6 ans. Cette étude est déployée dans 17 centres de soins français publics ou privés. Des données cliniques, environnementales, économiques, et de qualité de vie sont collectées à l'inclusion et durant le suivi, ainsi que des échantillons biologiques (sang, urine, ongle et tissu tumoral). Tous les échantillons sont centralisés, traités et stockés dans 4 centres de ressources biologiques.

COBLAnCE compte actuellement 12 centres de soins ouverts ; qui ont permis de recruter 986 patients représentatifs de la population atteinte de cancer de vessie. Ce sont majoritairement des hommes (83%), l'âge moyen au diagnostic est de 68 ans (+/- 10ans) et la plus grande partie des patients présentaient à l'inclusion une tumeur n'envahissant pas le muscle vésical (66.5%). Chez ces patients, 22% ont développé au moins une récurrence et/ou progression de la maladie. Chez les patients atteints d'une tumeur invasive, 17% ont présenté une progression de la maladie. Les acides nucléiques et les protéines extraits des échantillons biologiques sont de très bonne qualité et leur quantité permet d'envisager des analyses de biologie moléculaire mettant en œuvre les nouvelles technologies.

COBLAnCE permettra essentiellement : 1) d'étudier les mécanismes physiopathologiques de la maladie pouvant être modulés par le profil génétique des sujets et leur exposition à des carcinogènes environnementaux , 2) d'étudier plusieurs tumeurs consécutives chez un même patient, pour mieux comprendre les étapes de l'oncogenèse, 3) de transférer les résultats de l'étude vers la pratique clinique, 4) d'évaluer l'utilisation des ressources de soins dans les pratiques actuelles et comment elle peut évoluer en intégrant des biomarqueurs potentiels.

Financements : Investissements d'Avenir, Inserm, Ligue Nationale Contre le Cancer

## GÉNÉTIQUE FORMELLE, GÉNÉTIQUE DES POPULATIONS ET MALADIES COMPLEXES

**#2624 : Caractérisation des variants du nombre de copies (CNVs) du gène *GSTM1* avec la PCR digitale dans la polyarthrite rhumatoïde: Etude cas/témoin dans la population Tunisienne.**

### Auteurs :

Yosser Achour (1), Mohamed Sahbi Ben Kilani (2), Mariem Ben Hamad (1), Nadia Mahfoudh (3), Leila Keskes (1), Elisabeth Petit-Teixeira (2), Abdellatif Maalej (1)

1. Laboratoire de génétique moléculaire humaine, Faculté de médecine de Sfax, Sfax, Tunisie
2. Laboratoire de recherche européen pour la polyarthrite rhumatoïde GenHotel, Université Evry-val d'Essonne Paris 7, Evry, France
3. Service d'immunologie, CHU Hédi Chaker Sfax, Sfax, Tunisie

**Mots clefs :** *GSTM1*, CNVs, PCR digitale, Polyarthrite Rhumatoïde

### Résumé :

Les CNVs sont des modifications chromosomiques structurelles submicroscopiques qui modifient la quantité d'ADN et constituent une variabilité génétique du génome. Les CNVs jouent un rôle de facteur de risque pour certaines maladies complexes comme la polyarthrite Rhumatoïde (PR). Notre étude a pour objectif d'étudier l'association des CNVs d'un gène candidat fonctionnel appartenant à la famille des Glutathions S-Transférases (GST): le gène *GSTM1* avec la susceptibilité à la PR dans la population Sud-Tunisienne. Ce travail a été réalisé sur une série cas/témoin composée de 165 malades atteints de PR et 102 témoins sains, utilisant la PCR digitale (QX200™ droplet digital PCR) qui permet la quantification absolue des acides nucléiques avec une grande efficacité de mesure. L'étude d'association des différents nombres de copies identifiés a été analysée moyennant les tests statistiques  $\chi^2$  et test exact de Fisher, OR avec un intervalle de confiance 95%, utilisant le logiciel SPSS. La distribution du nombre de copies du gène *GSTM1* varie de 0 à 2 copies dans notre échantillon avec une fréquence plus élevée de la délétion complète (*GSTM1\*0*). Nos résultats ne montrent pas une différence significative globale du nombre de copies entre les malades et les témoins ( $p=0.87$ ). Par ailleurs, la comparaison des individus ayant la délétion complète du gène ainsi qu'une seule copie avec ceux portant le nombre de copie normal (CN=2) ne montre pas d'association significative (OR : NS,  $p>0.05$ ). La délétion du gène *GSTM1\*0* (0 copies) semble être un facteur de risque important pour l'anti-CCP+ (OR: 4.16 95% CI: 1.17–14.7).

En conclusion, la caractérisation des CNVs est une étape indispensable dans la découverte de nouveaux facteurs génomiques de maladies complexes telles que la PR. Nos résultats suggèrent un risque positif entre la délétion du gène (0copies) et l'anti CCP+ dans la PR au sein de notre population.

## GÉNÉTIQUE FORMELLE, GÉNÉTIQUE DES POPULATIONS ET MALADIES COMPLEXES

#2683 : L'apport du NGS dans les phénotypes TSA-DI non spécifiques : l'exemple du gène SHANK3

### Auteurs :

Anne-Laure Mosca-Boidron (1), Hélène Poquet (2), Marjolaine Willems (3), Julien Thevenon (4), Claire Redin (5), Christel Thauvin (4), Yannis Duffourd (2), Serge Lumbroso (6), Bénédicte Gerard (7), Jean-Louis Mandel (7), Frédérique Amsellem (8), Anita Beggiato (9), Richard Delorme (9), Nathalie Marle (1), Patrick Callier (1), Jean-Baptiste Rivière (2), Paul Kuentz (10), Amélie Piton (7), Laurence Faivre (11)

1. cytogénétique et génétique moléculaire, CHU Dijon, dijon, France
2. Equipe Génétique et Anomalies du Développement, Faculté de Médecine, Université de Bourgogne, Dijon, France, Université de Bourgogne, dijon, France
3. Département de Génétique Médicale, Pôle naissance et Pathologie de la femme, CHRU Montpellier, Montpellier, France
4. Centre de Génétique et Centre de référence « Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs », Hôpital d'enfants, CHU Dijon, France , CHU Dijon, dijon, France
5. IGBMC, Strasbourg, France, IGBMC, Strasbourg, France
6. Laboratoire de Biochimie, Pôle Biologie, CHRU Nîmes, France, CHRU Nîmes, nimes, France
7. IGBMC, Strasbourg, France, IGBMC, strasbourg, France
8. Psychiatrie de l'enfance et de l'adolescence, Hôpital Robert-Debré, Paris, France
9. Psychiatrie de l'enfance et de l'adolescence, Hôpital Robert-Debré, paris, France
10. Equipe Génétique et Anomalies du Développement, Faculté de Médecine, Université de Bourgogne, Dijon, France, Université de Bourgogne, Dijon, France
11. Centre de Génétique et Centre de référence « Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs », Hôpital d'enfants, CHU Dijon, France , CHU Dijon, Dijon, France

**Mots clefs :** TSA, Déficience intellectuelle, SHANK3, NGS

### Résumé :

Les Troubles du Spectre Autistique (TSA) sont des troubles neuro-développementaux hétérogènes qui apparaissent avant l'âge de 3 ans. Les TSA sont caractérisés par une dyade qui associe des troubles de l'interaction sociale et de la communication avec des comportements restreints et stéréotypés. D'autres manifestations cliniques peuvent s'y associer dont la plus fréquente est la déficience intellectuelle (DI). Malgré la forte composante génétique des TSA, les causes monogéniques sont rares. Parmi elles, les mutations affectant le gène *SHANK3* concerneraient près d'un enfant sur 50 avec autisme et DI modérée à profonde. Des délétions, interruptions et mutations tronquantes *de novo* de *SHANK3* ont été identifiées chez des individus avec TSA et il a été évoqué la présence de signes distinctifs permettant de déterminer un sous-groupe d'individus qui pourraient bénéficier du séquençage de ce gène (antécédents d'hypotonie néonatale, dysmorphie faciale type Phelan-McDermid comprenant une racine du nez large, un menton pointu, des yeux enfoncés, des oreilles larges, un nez bulbeux en particulier). Nous rapportons ici 3 cas de mutations *SHANK3* identifiés par séquençage de nouvelle génération (NGS) chez 2 patients étiquetés TSA avec DI et une patiente avec DI sévère mettre les nomenclatures. Parmi ces 3 mutations, 2 sont tronquantes *de novo* dans l'exon 21 du domaine « prolin-rich » : NM\_001080420.1:c.2955\_2970dup (p.(Pro992Arg\*325)) et NM\_001080420.1:c.4381C > T (p.(Gln1461\*)). La 3<sup>ème</sup> est une délétion en phase *de novo* dans l'exon 22 du domaine SAM (Sterile-Alpha-Motif), un domaine conservé et impliqué dans la multimerisation de la protéine SHANK3 : NM\_001080420.1:c.5090\_5092delACC (p.(His1697del)). L'examen clinique rétrospectif de ces patients n'a pas permis d'identifier de signes distinctifs, ce qui souligne l'hétérogénéité phénotypique de ces patients. Compte-tenu de la rareté des variants impliquant *SHANK3*, du caractère non systématique des signes cliniques distinctifs et de l'hétérogénéité génétique majeure retrouvée dans l'association TSA et DI, une approche par séquençage de nouvelle génération par panel ou exome semble plus justifiée que le séquençage ciblé de *SHANK3* dans ce phénotype.

## GÉNÉTIQUE FORMELLE, GÉNÉTIQUE DES POPULATIONS ET MALADIES COMPLEXES

#2687 : NAT2 genotypes in Moroccan patients with hepatotoxicity due to antituberculosis drugs

### Auteurs :

soukaina guaoua (1), ilham ratbi (2), Omaima El Bouazzi (3), Sanaa Hammi (4), Amina Tebaa (5), Jamal Eddine Bourkadi (6), Rachida Soulaymani Bencheikh (5), abdelaziz sefiani (1), Siham Chafai Elalaoui (1)

1. centre de génomique humaine, faculté de médecine et de pharmacie, université Mohamed V, Rabat, rabat, Maroc
2. centre de génomique humaine, faculté de médecine et de pharmacie, université Mohamed V, Rabat, rabat, France
3. Laboratoire de Pharmacotoxicologie, Centre anti poison et de pharmacovigilance , Faculté des Sciences, Université Ibn Tofail, Kénitra, Morocco, rabat, Maroc
4. Faculte de médecine, Université Abdel Malek Essaadi, Tanger, Morocco, Faculte de médecine, Université Abdel Malek Essaadi, Tanger, Morocco, rabat, Maroc
5. Laboratoire de Pharmacotoxicologie, Centre anti poison et de pharmacovigilance , Faculté de médecine et de pharmacie, Université Mohammed V, Rabat, Morocco, rabat, Maroc
6. Departement de Pneumologie, Centre hospitalier universitaire Moulay Youssef,, Faculté de médecine et de pharmacie, Université Mohammed V, Rabat, Morocco, rabat, Maroc

**Mots clefs :** Tuberculosis, hepatotoxicity, NAT2, Moroccan, variant

### Résumé :

#### Background

Of four first-line anti-tuberculosis drugs, isoniazid is the most effective and most commonly associated with hepatotoxicity. Differences in INH-induced toxicity have been attributed to genetic variability at *NAT2* gene that code for drug-metabolizing enzyme.

The aim of this study was to determine the acetylation profile of patients who developed hepatotoxicity after TB treatment and compare them with Moroccan controls.

#### Patients and methods

This study was focused on two groups of patients, the first group consists of 39 patients who developed hepatotoxicity after TB treatment, and second group consists of 163 controls.

We genotyped the four variants NAT2\*5, NAT2\*6, NAT2\*7 and NAT2\*14 of *NAT2* gene with PCR-sequencing and real time PCR.

#### Results

The majority of patients of the first group are slow acetylators carriers of NAT2\*5/\*5, NAT2\*5/\*6, NAT2\*6/\*6 and NAT2\*6/\*14 genotypes (82%), while the second group is formed of different genotypes encoding of slow, intermediate and rapid acetylator phenotype with frequencies of 72.39%, 21.48% and 6.13% respectively .

#### Conclusion

No rapid acetylator was found in the group of patients with hepatotoxicity, confirming that the slow acetylator phenotype is responsible for the development of TB treatment hepatotoxicity especially for the three genotypes NAT2\*5/\*5, NAT2\*5/\*6 and NAT2\*6/\*6.

We showed in a previous study that the frequency of slow acetylators is very high among the Moroccan population. Therefore, it is necessary to consider these results in the determination of the dose of isoniazide administered in TB patients, in order to avoid adverse effects.

**#2688 : Study of the endogamy and the consanguinity in the region of oriental Morocco**

**Auteurs :**

MOHAMMED EL OUARDANI (1), Lamiaa Habibeddine (2), ABDERRAHIME BOUALI (1)

1. LABORATOIRE DE GENETIQUE ET DE BIOTECHNOLOGIE, FACULE DES SCIENCES UNIVERSITE MOHAMED 1ER, OUJDA, Maroc
2. faculté des sciences, University Mohammed V-Agdal, rabat, Maroc

**Mots clefs :** Consanguinity, endogamy, isonymy, the oriental region of Morocco

**Résumé :**

The consanguinity is a rather frequent marital behavior in developing countries and especially the Arab countries. Indeed, the cultural and traditional values as well as the socio-economic factors, present an encouraging motivation for the practice and the distribution of this behavior. The Moroccan studies on this matter are rare and fragmentary. To approach the situation of the Moroccan subpopulations, to study the answer of the consanguinity and the endogamy towards the technical and cultural progress there, to study the impact of the consanguinity on the profile of the health and to test the performance of the isonymy as an alternative method of estimation of the consanguinity, we led a study on the oriental region of Morocco during period 2014-2015. At the end of this study, we denoted a coefficient of consanguinity and a rate of endogamy raised, testifying, respectively, of an intense practice of this marital behavior and of a very high intra-population immobility. A significant association was noted between the socio-economic and cultural factors, and the practice of the consanguinity. We also revealed a big variation between the marriages between blood relations, as to the nature of the family relationships which seem to influence the reliability of the method of isonymy.

## GÉNÉTIQUE FORMELLE, GÉNÉTIQUE DES POPULATIONS ET MALADIES COMPLEXES

### #2701 : Identification d'un premier gène de prédisposition à la dysplasie fibromusculaire artérielle

#### Auteurs :

Soto Romuald Kiando (1), Nathan Tucker (2), Cyrielle Tréard (1), Luis-Jaime Castro-Vega (1), Cristina Barlassina (3), Daniele Cusi (3), Pilar Galan (4), Jean-Philippe Empana (1), Jeffrey Olin (5), Heather Gornik (6), Pierre-Francois Plouin (7), Kullo Iftikhar (8), David Milan (2), Santhi Ganesh (9), Pierre Boutouyrie (10), Jason Kovacic (5), Xavier Jeunemaitre (11), Nabila Bouatia-Naji (1)

1. INSERM UMR970 PARCC, Université Paris-Descartes, Université Sorbonne Paris Cité, , Paris, France
2. Cardiovascular research Center, Massuchests General Hospital, , Charlestown, Etats-Unis
3. Dept. of Health Sciences, Genomic and Bioinformatics Unit, Chair and Graduate School of Nephrology, University of Milano, Division of Nephrology, San Paolo Hospital, , Milano, Italie
4. Nutritional Epidemiology Research Group, Sorbonne-Paris-Cité, UMR University of Paris 13/Inserm U-557/INRA U-1125/CNAM, , Bobigny, France
5. The Zena and Michael A. Wiener Cardiovascular Institute, Icahn School of Medicine, Marie-Josée and Henry R. Kravis Cardiovascular Health Center at Mount Sinai, , New York, Etats-Unis
6. Cleveland Clinic Heart and Vascular Institute, , Cleveland, Etats-Unis
7. INSERM UMR970 PARCC, Université Paris-Descartes, Université Sorbonne Paris Cité, AP-HP Department of Hypertension Hôpital Européen Georges Pompidou, , Paris, France
8. Department of Medicine, Division of Cardiovascular Diseases, Mayo Clinic, , Rochester, Etats-Unis
9. Department of Internal Medicine and Department of Human Genetics, University of Michigan, Ann Arbor, MI, USA. Department of Internal Medicine and Department of Human Genetics, University of Michigan, , Ann Arbor, Etats-Unis
10. INSERM UMR970 PARCC, Université Paris-Descartes, Université Sorbonne Paris Cité, AP-HP Department of Pharmacology Hôpital Européen Georges Pompidou, , Paris, France
11. INSERM UMR970 PARCC, Université Paris-Descartes, Université Sorbonne Paris Cité, AP-HP Referral Center for Rare Vascular Diseases Hôpital Européen Georges Pompidou , , Paris, France

**Mots clefs :** Dysplasie fibromusculaire artérielle, étude d'association génétique, EWAS, exome-chip, sténose artérielle

#### Résumé :

Fibromuscular dysplasia (FMD) is a nonatherosclerotic vascular disease leading to arterial stenosis, aneurysm and dissection, mainly in renal and carotid artery. FMD has higher prevalence in females (80-90%) and is associated with hypertension and stroke. The pathophysiology of FMD is unclear and a genetic origin is suspected.

We performed a genetic association study in European ancestry individuals. The discovery included 249 cases and 689 controls, in which we analyzed ~26K common variants (MAF > 0.05) using an exome-chip array. We followed up 13 loci ( $P < 10^{-4}$ ) in 393 cases and 2537 controls and replicated a signal on Chr6. Three additional studies (combined  $N_{\text{cases}}=512$ ,  $N_{\text{controls}}=669$ ) confirmed this association, with an overall OR of 1.39, ( $P=7.4 \times 10^{-10}$ , All  $N_{\text{cases}}=1154$ , All  $N_{\text{controls}}=3895$ ).

The FMD risk variant is intronic to the phosphatase and actin regulator 1 gene (*PHACTR1*), involved in angiogenesis and cell migration. *PHACTR1* is a risk locus for coronary artery disease, migraine, and cervical artery dissection, which may occur in FMD. We found a significant association between the risk allele and higher central pulse pressure ( $P=0.0009$ ), increased intima media thickness ( $P=0.001$ ) and wall cross-sectional area ( $P=0.003$ ) of carotids assessed by echotracking in 3800 population-based individuals. RNA expression of *PHACTR1* in primary cultured human fibroblasts is 1.7 fold higher in FMD patients ( $N=20$ , matched to 20 controls) and we showed that FMD risk allele is an eQTL for *PHACTR1* in fibroblast of 57 FMD patients ( $P=0.02$ ). Finally, *Phactr1* knockdown of zebrafish showed significantly dilated vessels ( $P=0.003$ ) indicating impaired development of vasculature.

Here we report the first risk locus for FMD with the largest genetic association study conducted so far. Our data reveal a common genetic variant at *PHACTR1* providing indices of shared pathophysiology between FMD and other cardiovascular and neurovascular diseases.

## GÉNÉTIQUE FORMELLE, GÉNÉTIQUE DES POPULATIONS ET MALADIES COMPLEXES

### #2704 : Caractérisation histologique et moléculaire des tumeurs du sein de femmes porteuses d'une mutation constitutionnelle dans le gène ATM.

#### Auteurs :

Anne-Laure Renault (1), Eve Cavaciuti (1), Noura Mebirouk (1), Laetitia Fuhrmann (2), Elodie Girard (3), Tatiana Popova (4), Dorothée Le Gal (1), Juana Beauvallet (1), Martine Labbé (1), Cécile Reyes (5), David Gentien (5), Alban Lermine (6), Catherine Dubois d'Enghien (7), Anthony Laugé (7), Nicolas Janin (8), Isabelle Coupier (9), Audrey Combes (10), Laurence Gladiéff (11), Capucine Delnatte (12), Bruno Buecher (13), Claude Adenis (14), Hélène Zattara (15), Jean-Pierre Fricker (16), Laurence Venat-Bouvet (17), Pascaline Berthet (18), Philippe Vennin (14), Laurence Olivier-Faivre (19), Jacques-Olivier Bay (20), Odette Mariani (21), Marc-Henri Stern (22), Janet Hall (23), Anne Vincent-Salomon (2), Dominique Stoppa-Lyonnet (7), Nadine Andrieu (24), Fabienne Lesueur (24)

1. Epidémiologie Génétique des Cancers, INSERM U900, Institut Curie, Mines ParisTech, Paris, France
2. Département de pathologie, Institut Curie, Paris, France
3. Plateforme de bioinformatique, INSERM U900, Institut Curie, Paris, France
4. Génomique et Biologie des Cancers du Sein Hériditaires, U830, Paris Descartes, Paris, France
5. Département de Recherche translationnelle, Plateforme de génomique, Institut Curie, Paris, France
6. Plateforme de bioinformatique, INSERM U900, Institut Curie, Mines ParisTech, Paris, France
7. Service de Génétique Constitutionnelle, Institut Curie, Paris, France
8. Centre de génétique humaine, Cliniques Universitaires St-Luc, Bruxelles, Belgique
9. Service de Génétique médicale et Oncogénétique, Hôpital Arnaud de Villeneuve, CHU Montpellier, Montpellier, France
10. Unité de Génétique Médicale et Cytogénétique, Centre Hospitalier Universitaire de Nîmes, Nîmes, France
11. Service d'Oncologie Médicale, Institut Claudius Regaud – IUCT-Oncopole, Toulouse, France
12. Unité d'Oncogénétique, Centre René Gauducheau, Nantes Saint Herblain, France
13. Plateforme de Génomique, Service de Génétique Constitutionnelle, Institut Curie, Paris, France
14. , Centre Oscar-Lambret, Lille, France
15. , Hôpital Saint Joseph, Marseille, France
16. Unité d'Oncologie, Centre Paul Strauss, Strasbourg, France
17. Service d'Oncologie Médicale, Hôpital Universitaire Dupuytren, Limoges, France
18. Unité de pathologie gynécologique, Centre François Baclesse, Caen, France
19. Service de Génétique Médicale, Hôpital d'Enfants, Dijon, France
20. Service d'oncologie médicale, CHU Clermont-ferrand, site Estaing, Clermont-Ferrand, France
21. Centre de Ressources Biologiques, Institut Curie, Paris, France
22. Génomique et Biologie des Cancers du Sein Hériditaires, U830, Institut Curie, Paris, France
23. UMR INSERM 1052, CNRS 5286, Centre de Recherche en Cancérologie de Lyon, Lyon, France
24. Epidémiologie Génétique des Cancers, INSERM U900, Institut Curie, Paris, France

#### Résumé :

Des mutations bialléliques inactivatrices dans le gène *Ataxia-Telangiectasia Mutated (ATM)* sont responsables de l'ataxie-télangiectasie (A-T), une maladie génétique récessive rare de l'enfant caractérisée par une dégénérescence neuronale, des télangiectasies oculo-cutanées, un déficit immunitaire, une radiosensibilité et un risque accru de cancer. Des études familiales ont montré que les femmes apparentées à un enfant atteint d'A-T et porteuses d'une seule copie mutée d'*ATM* (« femmes HetAT ») ont un risque plus élevé de cancer du sein (CS) que la population générale (OR≈2-3). Dans la population générale, des études cas-témoins ont confirmé l'implication d'*ATM* dans la prédisposition au CS et ont montré que des substitutions faux-sens, probablement à effet dominant négatif, telles que le variant c.7271T > G, sont également associées à un risque modéré de CS (RR≈3). Environ 1% de la population serait porteuse d'un variant délétère dans *ATM*.

Le but de ce projet est de caractériser au niveau histologique et moléculaire les tumeurs du sein survenant dans un contexte de prédisposition génétique liée à *ATM* afin d'identifier des marqueurs ou des profils particuliers permettant de distinguer ces patientes des autres formes héréditaires et des formes sporadiques, et d'améliorer le suivi des femmes HetAT.

Vingt tumeurs du sein de patients A-T (N=2) ou de femmes HetAT (N=18) participant aux études AT-Rétro et CoF-AT ont été annotées sur les plans clinique et anatomo-pathologique. Les données ont été comparées à celles de tumeurs du sein obtenues en chirurgie première de la série PicBim (N=649). Nous avons utilisé une approche SNP-array (puce OncoScan Affymetrix) pour analyser les variations du nombre de copies et les pertes

d'hétérozygotie dans le génome de 11 tumeurs. D'autres types d'altérations somatiques ont été recherchées par séquençage du génome entier (WGS) dans 3 tumeurs.

Les tumeurs ATM examinées sont de haut grade et appartiennent principalement au sous-type moléculaire luminal B. Chez les femmes HetAT, la perte de l'allèle normal est observée 10 fois sur 11. Les tumeurs avec une inactivation bi-allélique d'*ATM* ne présentent pas la signature « BRCAness » caractérisée par une grande instabilité génomique, mise en évidence chez les porteuses d'une mutation de *BRCA1*. En revanche, des gains chromosomiques en 8p, 8q et 17q et des pertes en 1q, 6q, 8p, 11q et 13q sont observés de façon récurrente. L'analyse WGS des 3 paires « ADN sang/ADN tumoral » a permis de caractériser des altérations somatiques de type grands réarrangements et de plus petite taille (inDels, SNVs) ; seuls 5 gènes altérés dans leur région codante sont communs aux 3 tumeurs.

L'analyse du transcriptome de cette série unique permettra de dresser un répertoire complet des altérations génomiques des tumeurs ATM. L'étude sera étendue aux tumeurs de femmes HetAT nouvellement identifiées via l'analyse ciblée de panels de gènes impliqués dans la prédisposition au cancer, hors contexte A-T.

## GÉNÉTIQUE FORMELLE, GÉNÉTIQUE DES POPULATIONS ET MALADIES COMPLEXES

#2747 : Le projet FREX : une base de données d'exomes des régions françaises

### Auteurs :

Emmanuelle GENIN (1), Christian DINA (2), Thomas LUDWIG (1), Olivier QUENEZ (3), Sébastien LETORT (1), Pierre LINDENBAUM (2), Joanna GIEMZA (2), Benjamin GRENIER-BOLEY (4), Camille CHARBONNIER (3), Delphine BACQ (5), Doris LECHNER (5), Anne BOLAND (5), Vincent MEYER (5), Karen ROUAULT (1), Céline BELLENGUEZ (4), Claude FEREC (1), Hervé LE MAREC (2), Luc LETENNEUR (6), Jean-François DARTIGUES (6), Jean-Charles LAMBERT (4), Dominique CAMPION (3), Richard REDON (2), Jean-François DELEUZE (5)

1. Inserm UMR1078, CHRU Brest, Brest, France
2. Inserm UMR 1087 / CNRS UMR 6291 , l'institut du thorax, Nantes, France
3. Inserm UMR1079, CHRU Rouen, Rouen, France
4. Inserm UMR1167, Institut Pasteur, Lille, France
5. Centre National de Génotypage, , Evry, France
6. Inserm UMR897, Université de Bordeaux, Bordeaux, France

**Mots clefs :** exome, rare variant, association, population genetics, stratification

### Résumé :

Les nouvelles techniques de séquençage permettent aujourd'hui de caractériser l'ensemble des variations génétiques présentes dans la partie codante (exome) d'un individu. On peut ainsi mettre en évidence de nouveaux variants génétiques impliqués dans des maladies monogéniques ou facteurs de risque de maladies complexes. Les méthodes d'analyse utilisées dans l'étude de ces deux types de maladies sont différentes mais, dans les deux cas, le défi majeur qui se pose est celui de l'interprétation de la fonctionnalité des variants découverts. En effet, chaque exome humain contient de nombreuses variations nucléotidiques dont certaines sont rares et non répertoriées dans les bases de données (BD). Utiliser une information sur la fréquence pour juger du caractère potentiellement délétère de la variation pose cependant problème car les BD actuellement disponibles ne contiennent pas d'exomes provenant de nos régions géographiques. Or, toutes les études d'association pangénomiques réalisées ces dernières années ont montré qu'il existe des variations de fréquences alléliques entre pays et même au sein d'un même pays. Ces variations de fréquences, détectables sur les variants génétiques fréquents et anciens, doivent exister de manière encore plus importante pour les variants génétiques rares apparus plus récemment dans les populations et n'ayant pas eu le temps de se disperser dans l'espace. Disposer d'une BD d'exomes français semble donc être un préalable indispensable pour exploiter l'information génétique apportée par le séquençage. C'est dans ce but que nous avons mis en place le projet French Exome (FREX). Nous avons ainsi réalisé le séquençage des exomes (kit de capture Agilent V5+UTR) et le génotypage sur puce de SNPs (Illumina OmniExpressExome) de plus de 600 individus de la population générale provenant de 6 régions françaises (Nord-Pas-de-Calais, Normandie, Bretagne, Pays de la Loire, Aquitaine, Bourgogne). Après contrôle qualité, 554 exomes sont ainsi disponibles sur lesquels nous avons identifié 983,798 SNVs dont 31,87% ne sont pas répertoriés dans les BD 1000 Genomes et ExAC. Pour un individu donné, ce sont ainsi 104 988 SNVs qui sont trouvés en moyenne parmi lesquels 6 704 ne sont pas répertoriés dans 1000 Genomes ou ExAC. En utilisant le reste du panel FREX comme référence, il ne reste plus en moyenne que 441 SNVs propres à l'individu. Une partie de cette diminution est expliquée par des faux positifs spécifiques de la plateforme de séquençage mais pas seulement. Ainsi, si on utilise d'autres exomes français le nombre moyen de SNVs spécifiques à un individu passe de 100 045 à 5 980 quand on filtre sur les BD et à 3 287 si on ajoute FREX. Ces résultats montrent donc bien la spécificité géographique des variations génétiques et l'intérêt de disposer d'une BD représentative de nos régions et d'un panel de témoins de référence comme FREX.

*This Work was supported by France Génomique (contrat ANR-10-INBS-09).*

## GÉNÉTIQUE FORMELLE, GÉNÉTIQUE DES POPULATIONS ET MALADIES COMPLEXES

**#2760 : Diagnostic de la maladie de Charcot-Marie-Tooth (CMT) grâce à la stratégie NGS avec un panel personnalisé de 88 gènes**

### Auteurs :

Anne-Sophie LIA (1), Corinne Magdelaine (1), Hélène Dzugan (1), Claire-Cécile Barrot (1), Laurent Magy (2), Jean-Michel Vallat (2), Franck Sturtz (1)

1. Biochimie et Génétique Moléculaire, CHU de Limoges, Limoges, France
2. Neurologie, CHU de Limoges, Limoges, France

**Mots clefs :** Charcot-Marie-Tooth, Stratégie NGS, Diagnostic

### Résumé :

Les neuropathies périphériques de type Charcot-Marie-Tooth (CMT) sont les plus fréquentes maladies neuromusculaires d'origine génétique (prévalence 1/2500). Plus de 80 gènes ont été impliqués dans les différentes formes de la maladie (démýelinisante, axonale, ...), avec des modes de transmission variables. Les technologies NGS permettent actuellement de développer des tests diagnostiques criblant la totalité des gènes connus dans le CMT en une seule expérience.

Nous avons créé un panel personnalisé Ampliseq contenant l'ensemble des 88 gènes actuellement connus pour être impliqués dans les CMT et pathologies proches. Ce panel contient 2394 amplicons et couvre 99,24% des séquences ciblées de ces 88 gènes, soit au total 279 kb. Les bibliothèques préparées pour chaque patient sont ensuite séquencées sur Proton. Nous avons optimisé : 1) les conditions expérimentales afin d'avoir moins de 1,5% des amplicons avec une couverture inférieure à 50X, 2) les paramètres d'analyse bioinformatique, afin de détecter : a) la totalité des SNPs, b) les indels allant jusqu'à 24 nucléotides et c) des mutations localisées sur des homopolymères ayant jusqu'à 7 répétitions. Une approche complémentaire bioinformatique nous permet également de détecter des grands indels touchant plus de 3 amplicons consécutifs.

Les statistiques réalisées sur une cohorte de 100 patients montrent que nous obtenons en moyenne 353 variants par patient, dont en moyenne uniquement 25 ont une fréquence allélique inconnue ou inférieure à 0,5% (~ 8 exoniques, 17 introniques). Ces variants sont alors examinés attentivement en relation avec le phénotype du patient (clinique, EMG, biopsie, etc ...). Cette approche NGS nous a permis d'améliorer notre capacité de diagnostic 1) en détectant des mutations (déjà connues) sur des gènes que nous ne testions pas systématiquement en séquençage Sanger, tels que IGHMBP2, LRSAM1 etc ..., 2) en détectant plus rapidement des mutations sur de grands gènes plus long à séquencer en Sanger, tel que MFN2, SH3TC2, etc... Ainsi sur 100 patients, le diagnostic a pu être posé de façon certaine dans 56% des cas (contre 25% des cas par séquençage Sanger classique)

Cependant, dans certains cas (20%), plusieurs variants inconnus (potentiellement pathogènes d'après les logiciels de prédiction) restent candidats malgré notre travail de corrélation phénotypique. Il est alors extrêmement utile d'avoir le maximum d'apparentés du patient pour conclure plus facilement sur la pathogénicité des variants détectés. A l'inverse, chez 24% des patients, le diagnostic ne peut pas être posé complètement car 1) soit une seule mutation potentiellement pathogène est détectée sur un gène supposé de transmission récessive, 2) soit aucun variant d'intérêt n'est détecté. Une stratégie complémentaire par séquençage read-pairés pourrait être proposée, afin de détecter d'éventuels remaniements dans les gènes CMT connus ou bien un séquençage d'exomes afin de découvrir de nouveaux gènes impliqués dans les CMT.

## GÉNÉTIQUE FORMELLE, GÉNÉTIQUE DES POPULATIONS ET MALADIES COMPLEXES

### #2802 : Etude d'association des polymorphismes C677T et A1298C du gène MTHFR avec l'hyperhomocystéinémie chez les patients tunisiens atteints de polyarthrite rhumatoïde

#### Auteurs :

Souhir Chaabane (1), Meriam Messedi (2), Rim Akrouf (3), Sameh Marzouk (4), Mouna Turki (2), Fatma Ayadi (2), Leila Keskes (1), Abdellatif Maalej (1)

1. Laboratoire de Génétique Moléculaire Humaine, Faculté de Médecine, Sfax, TUNISIE, sfax , Tunisie
2. Unité de recherche des Bases Moléculaires de la pathologie humaine , Faculté de Médecine, Sfax, TUNISIE, sfax , Tunisie
3. Service de Rhumatologie, CHU Hédi Chaker, Sfax, TUNISIE, sfax , Tunisie
4. Service de Médecine Interne, CHU Hédi Chaker, Sfax, TUNISIE, sfax , Tunisie

**Mots clefs :** Polyarthrite Rhumatoïde, MTHFR, Polymorphismes: (C677T; A1298C), Hyperhomocystéinémie, Methotrexate, Toxicité

#### Résumé :

L'hyperhomocystéinémie est définie par un taux d'homocystéine supérieur à 15  $\mu\text{mol/l}$ . elle est observée chez 20 à 42 % des patients atteints de polyarthrite rhumatoïde (PR). Parmi les facteurs pouvant induire une hyperhomocystéinémie est le déficit enzymatique en méthylène tétrahydrofolate réductase (MTHFR), enzyme responsable de l'activation de l'acide folique, dont son action est inhibée par le méthotrexate (MTX) qui est le traitement de fond classique le plus prescrit dans la PR.

**Objectif :** Notre étude a été menée en vue de tester une éventuelle association entre les polymorphismes C677T (rs1801133) et A1298C (rs1801131) du gène MTHFR et le taux plasmatique de l'homocystéine, l'acide folique et la vitamine B12 et de chercher une éventuelle corrélation entre la présence de l'hyperhomocystéinémie et la toxicité du MTX chez un groupe de patients tunisiens atteints de PR.

**Matériel et méthodes :** Ce travail a été effectué sur une série de 127 patients atteints de PR dont 101 sont traités par le MTX (7,5 à 20mg /semaine), subdivisés en 38 patients présentant une toxicité au MTX et 63 patients sans toxicité et 100 témoins sains non apparentés d'origine Tunisienne. Le génotypage a été effectué par la technique de PCR-RFLP utilisant les enzymes de restriction HinfI et MboII. Le dosage de l'homocystéine plasmatique (Hmcy) a été réalisé par la technique de Polarisation de Fluorescence Immuno-Assay (PFIA) et celui des folates et de la vitamine B12 plasmatique par la méthode d'Electro-Chimi-Luminescence (ECLIA). L'association a été évaluée moyennant les tests statistiques (test  $\chi^2$  (2\*2) et le test de Mann-Whitney U).

**Résultats :** Nos résultats suggèrent un effet protecteur de génotype 'CC' du polymorphisme C677T contre l'hyperhomocystéinémie dans notre échantillon d'étude ( $p= 0.006$ ). Cependant, aucune association significative n'a été observée pour le polymorphisme A1298C du gène MTHFR. De plus, nous n'avons pas détecté une association entre les deux polymorphismes et les taux plasmatiques de l'acide folique et de la vitamine B12. Par ailleurs, nos résultats ne plaident pas en faveur d'une association entre l'hyperhomocystéinémie et la toxicité du MTX ( $p= 0.22$ ).

**Auteurs :**

Houria Hardouz (1), Layla Sbiï (1), Hind Hami (1), Abdelrhani Mokhtari (1), Abdelmajid Soulaymani (1), Ali Quyou (2)

1. , , KENITRA, Maroc

2. , , RABAT, Maroc

**Mots clefs :** Prévalence de la consanguinité, Facteurs incriminés, Tanger-Tetouan, Maroc

**Résumé :**

**Consanguinité chez la population marocaine : Région de Tanger-Tétouan**

**Houria Hardouz<sup>1</sup>**, Layla Sbiï<sup>1</sup>, Hind Hami<sup>1</sup>, Abdelrhani Mokhtari<sup>1</sup>, Abdelmajid Soulaymani<sup>1</sup>, Ali Quyou<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire de Génétique et Biométrie, Faculté des Sciences, Université Ibn Tofail, Kenitra, Maroc.

Le mariage consanguin est encore une coutume pratiquée dans plusieurs pays du monde avec des fréquences variables. La population de la région de Tanger-Tétouan du Maroc à l'instar des autres pays, n'était pas épargnée de la pratique du mariage consanguin. Les données sur les mariages consanguins dans cette région jusqu'à maintenant sont limitées. Cette étude a examiné la prévalence actuelle des mariages consanguins et les facteurs sociodémographiques et culturels incriminés dans ce type d'union chez cette population. Il s'agit d'une étude prospective menée auprès des parents des étudiants universitaires de la région de Tanger-Tétouan, recensés au hasard pendant l'année 2014. Le support de recueil des données, utilisé dans cette étude, était un questionnaire élaboré par l'équipe du Laboratoire de Biométrie et de Génétique de la Faculté de Sciences de Kenitra. Ce questionnaire anonyme, comportait des données relatives aux parents des étudiants (génération actuelle), notamment les caractéristiques sociodémographiques et culturelles. Nous avons utilisé le test  $\chi^2$  pour effectuer des analyses comparatives entre les groupes consanguins et non consanguins. Toutes les analyses statistiques ont été réalisées avec un logiciel statistique. La prévalence du mariage consanguin représentait 64,86% avec une forte tendance vers les unions entre cousins germains (41,25%). La consanguinité a été trouvée significativement liée au niveau d'instruction primaire des couples (28,17% des femmes consanguines contre 10,85% non consanguines,  $p < 0,001$  et 38,16% des époux avec des mariages consanguins par rapport 26,92% chez leurs confrères non consanguins,  $p < 0,001$ ). La prévalence des alliances consanguines était plus élevée chez les couples de provenance rurale (plus de 20% des couples consanguins,  $p < 0,05$ ). Le jeune âge au premier mariage était également parmi les facteurs impliqués significativement dans la consanguinité aussi bien chez les épouses que les époux (53,13% des femmes consanguines avaient un âge entre 10 et 20 ans pendant leur premier mariage,  $\chi^2= 11,447$ ,  $p < 0,05$  ; contre 13,54% des époux consanguins,  $\chi^2= 15,486$ ,  $p < 0,05$ ). En outre, plus de 50% des couples consanguins ont été associés de manière significative avec la consanguinité chez leurs parents,  $p < 0,001$ ). La prévalence du mariage consanguin chez la population de Tanger-Tétouan du Maroc était très élevée, ce qui rend cette population à risque à des malformations congénitales et des maladies génétiques. Des efforts devraient être dirigés vers une meilleure éducation et le conseil prénuptial et prénatal.

Mots clefs : Prévalence de la consanguinité, Facteurs incriminés, Tanger-Tétouan, Maroc

## GÉNÉTIQUE FORMELLE, GÉNÉTIQUE DES POPULATIONS ET MALADIES COMPLEXES

**#2828 : ExAM: Exome Analysis and Mining, une application interactive d'analyse de données de séquençage d'exomes humains pour faciliter la détection de gènes responsables de maladies.**

### Auteurs :

Mathilde Daures (1), Anne Degavre (1), Anatole Gesnouin (1), Cécile Julier (1), Anne Philippi (1)

1. UMR-S958, INSERM, Paris, France

**Mots clefs :** séquençage d'exomes, bio-informatique, maladie génétiques, variants

### Résumé :

Avec les progrès rapides des technologies de séquençage à haut-débit (next generation sequencing, NGS), des quantités croissantes de données de variations génétiques sont générées et deviennent disponibles à une communauté scientifique de plus en plus large et diversifiée. Dans ce domaine en constante évolution, l'identification des mutations responsables de maladies mendéliennes parmi les nombreux variants existants reste un défi, alors qu'émerge en outre une demande d'un public de plus en plus large et non nécessairement bio-informaticien pour réaliser ces analyses. Actuellement de nombreux outils existent pour faciliter l'identification des variants responsables de maladies, par l'utilisation de filtres plus ou moins sophistiqués, d'annotations additionnelles, en prenant en considération les modes de transmission et/ou en priorisant les variants selon divers critères. Cependant, malgré leur diversité, les outils qui sont actuellement publiquement disponibles ont plusieurs limites : 1) aucun d'entre eux n'utilise l'ensemble des ressources disponibles pour l'analyse des variants; 2) aucun n'intègre directement l'analyse simultanée des sous-phénotypes et des modes de transmission génétique de la maladie. Pour répondre à ces limites, nous avons développé un outil interactif, ExAM (Exome Analysis and Mining), qui permet d'analyser efficacement les données de séquençage d'exome sur de grandes séries de patients, cas/témoins et/ou familles complexes, pour identifier les variants responsables de maladies. Le programme propose un grand choix de filtres et d'annotations additionnelles issues de plus de 30 bases de données publiques. Il permet la comparaison de sous-groupes d'individus selon des traits spécifiques de la maladie et/ou les génotypes attendus. Pour faciliter la décision, ExAM propose un score de classification des variants génétiquement compatibles, basé sur ces annotations et sur des listes de mots clés spécifiques de la maladie et/ou des patients. Nous avons montré la capacité d'ExAM à identifier et prioriser les mutations candidates sur deux exemples : une maladie rare récessive et une maladie rare dominante. Avec son interface intuitive, ExAM est également accessible aux utilisateurs non bio-informaticiens et ne requiert pas une grande expertise en informatique pour son installation. ExAM a été développé sous Linux et est disponible sur SourceForge (<http://sourceforge.net/projects/exam-exome-analysis-and-mining/>).

## GÉNÉTIQUE FORMELLE, GÉNÉTIQUE DES POPULATIONS ET MALADIES COMPLEXES

#2851 : Comparing targeted exome and whole exome approaches for genetic diagnosis of neuromuscular disorders.

### Auteurs :

Svetlana Gorokhova (1), Mathieu Cerino (2), Yves Mathieu (1), Sebastien Courier (1), Jean-Pierre Desvignes (1), David Salgado (1), Christophe Bérout (1), Martin Krahn (3), Marc Bartoli (1)

1. , Aix Marseille University, INSERM, GMGF, UMR\_S 910, Marseille, France

2. Department de Medical Genetics, APHM, Timone Children's Hospital, Marseille, France

3. , APHM, Timone Children's Hospital, Marseille, France

**Mots clefs** : targeted exome, gene panel, whole exome, massively parallel sequencing, genetic diagnosis, neuromuscular disorders

### Résumé :

Massively parallel sequencing is rapidly becoming a widely used method in genetic diagnostics. However, there is still no clear consensus as to which approach can most efficiently identify the pathogenic mutations carried by a given patient, while avoiding false negative and false positive results. We initially developed a targeted exome approach (MyoPanel1) designed to simultaneously analyze 298 genes implicated in myopathies and cardiomyopathies as well as differential diagnosis genes. We now describe several optimization steps, leading to an improved MyoPanel2 consisting of 306 genes and reaching 98.8% target sequence coverage at 20x. Moreover, MyoPanel2 is able to detect almost all (99.7%) of 11467 known mutations responsible for neuromuscular disorders. We have then used several quality control parameters to compare performance of the targeted exome approach with that of whole exome sequencing. The results of this pilot study of 140 DNA samples suggest that targeted exome sequencing approach is an efficient genetic diagnostic test for most neuromuscular diseases.

## GÉNÉTIQUE FORMELLE, GÉNÉTIQUE DES POPULATIONS ET MALADIES COMPLEXES

#2894 : Variabilité génétique du système des groupes sanguins ABO au Maroc : Apport de la PCR-SSP

### Auteurs :

Fatima Zarati (1), Hafid Ahtak (2), Nourddine Habti (3)

1. Laboratoire Immuno-hématologie, Centre de transfusion Sanguine, Casablanca, Maroc
2. Faculté Polydisciplinaire, Université Cadi Ayyad, Safi, Maroc
3. Centre Nationale de transfusion sanguine, Laboratoire de génie génétique et génie cellulaire, Casablanca, Maroc

**Mots clefs :** Variabilité génétique, Polymorphisme ABO , Fréquence phénotypique et génique , dépression allélique A2, PCR-SSP

### Résumé :

Plusieurs études ont permis de déterminer les fréquences phénotypiques des groupes sanguins ABO ainsi que leurs répartitions dans différentes régions du Maroc. Cependant, à ce jour, il n'existe pas de données relatives au polymorphisme génique ABO. Considérant l'importance du système ABO en médecine transfusionnelle et en anthropologie, l'objectif de notre étude est de déterminer le polymorphisme phénotypique et génique ABO chez les donneurs de sang à Casablanca, par les techniques immuno-hématologiques et par la PCR-SSP. Les fréquences allélique ABO de 9271 donneurs de sang sont : 0,681 ; 0,205 et 0,114 respectivement pour les allèles O, A et B. L'étude génotypique de 180 sujets a permis d'identifier 18 génotypes et 7 allèles. Les fréquences géniques ABO trouvés sont: 0,346 ; 0,233 ; 0,117 ; 0,1 ; 0,058 et 0,021 respectivement pour les allèles ABO\*O<sub>02</sub> ; ABO\*O<sub>01</sub>; ABO\*B<sub>101</sub>; ABO\*A<sub>101</sub>; ABO\*A<sub>201</sub> et ABO\*A<sub>102</sub>. Cependant, le génotype de 15 sujets était indéterminé par la PCR-SSP. La diversité allélique serait plus élevée à celle mise en évidence, une fois le séquençage des allèles indéterminés sera réalisé.

Les nouvelles données de notre étude génotypique montre que le patrimoine génétique marocain est proche de celui de la population du proche et du moyen orient. En outre, nos résultats ont révélé que l'allèle A s'exprime phénotypiquement comme un allèle A faible chez 16,18% des sujets de groupes sanguin AB. Ce pourcentage élevé ne peut être expliqué par la fréquence des allèles A faible uniquement. L'étude suggère l'existence du phénomène de la dépression du gène A par le gène B. La dépression concerne 96,66% de sujets A201/B101 et 3,34% de sujets A206/B101. Le séquençage du gène ABO ainsi que l'étude de l'activité enzymatique des glycosyltransférase A et B sont nécessaires pour mieux appréhender le polymorphisme ABO au sein de la population marocaine. Aussi, la fréquence élevée des A<sub>faible</sub>B doit être prise en considération au cours des analyses immuno-hématologiques de routine au laboratoire et en conseil transfusionnel (Choix des produits sanguins labiles). La dépression de l'allèle A par l'allèle B guidera les opérateurs à choisir des antisérums de détermination des groupes sanguins ABO performants.

## GÉNÉTIQUE FORMELLE, GÉNÉTIQUE DES POPULATIONS ET MALADIES COMPLEXES

**#3061 : Prévalence des mutations des gènes POU4F3 (DFNA15) et SLC17A8 (DFNA25) dans les surdités dominantes autosomiques.**

### Auteurs :

Corinne Baudouin (1), Béatrice Bocquet (1), Nicolas Guevarra (2), Jean-Pierre Lavieille (3), Catherine Blanchet (1), Christian Hamel (4), Michel Mondain (5)

1. Centre National de Référence Maladies Rares "Affections Sensorielles Génétiques", CHRU Montpellier, France, Montpellier, France
2. Service ORL, CHU Nice, Nice, France
3. Service ORL, CHU Marseille, Marseille, France
4. Centre National de Référence Maladies Rares "Affections Sensorielles Génétiques", CHRU Montpellier, France, Montpellier, France
5. Service ORL, CHRU Montpellier, France, Montpellier, France

**Mots clefs :** Surdité, DFNA

### Résumé :

La mutation des gènes *POU4F3* (DFNA15) et *SLC17A8* (DFNA25) entraîne des surdités dominantes autosomiques évolutives bilatérales symétriques à courbes faiblement descendantes qui peuvent mimer des presbyacousies précoces en raison de l'âge de survenue.

#### **1/ Objectifs de l'étude:**

Déterminer la prévalence des mutations dans le gène *SLC17A8* et dans le gène *POU4F3* chez 50 patients (européens issus du bassin méditerranéen – 39 Montpellier – 6 Nice – 5 Marseille Hôpital Nord) présentant une surdité de perception évolutive bilatérale symétrique à courbe faiblement descendante ayant débuté après l'âge de 25 ans.

#### **2/ Méthode:**

Conception des amorces pour les 12 exons du gène *SLC17A8* et les 2 exons du gène *POU4F3*. Recherche de mutations par PCR-séquence dans les parties codantes et jonctions introniques des gènes *SLC17A8* et *POU4F3* chez les 50 premiers patients index de l'étude. Validation des mutations identifiées chez les autres membres de la famille (dont l'ADN est disponible) par PCR-séquence de l'exon concerné.

#### **3/ Résultats:**

Deux nouvelles mutations (mutation 1: c.765delC (p.A255fsX63), mutation 2: c.226del7 (p.Pro76fsX224)) ont été identifiées dans le gène *POU4F3*, présentes à l'état hétérozygote, chez deux patients issus de deux familles différentes. Ces mutations, non référencées dans la littérature à ce jour, sont des mutations non-sens entraînant l'apparition d'un codon STOP prématuré et la production d'une protéine tronquée très probablement peu ou non fonctionnelle par rapport à la protéine sauvage. Ces deux mutations ont été validées en réalisant l'étude de ségrégation familiale sur les ADN disponibles des deux familles concernées (les atteints ont la mutation/ les non-atteints n'ont pas la mutation). Aucune mutation pathogène identifiée dans le gène *SLC17A8* chez les 50 patients.

#### **4/ Conclusion**

La prévalence pour *POU4F3* dans les surdités autosomiques dominantes est de 4%, celle de *SLC17A8* est nonchiffable sur cet échantillon (0 %) et nécessiterait une cohorte plus importante pour estimer sa prévalence réelle.

## GÉNÉTIQUE FORMELLE, GÉNÉTIQUE DES POPULATIONS ET MALADIES COMPLEXES

### #3069 : Identification de gènes modificateurs dans les maladies rares : efficacité d'approches génomiques croisées dans le syndrome de Marfan

#### Auteurs :

Mélodie AUBART (1), Steven GAZAL (2), Pauline ARNAUD (1), Louise BENARROCH (1), Julien BURATTI (3), Marie-Sylvie GROSS (1), Nadine HANNA (4), Maud LANGEAIS (5), Myrtille SPENTCHIAN (5), Anne BOLAND (6), Vincent MEYER (6), Mathieu BARBIER (1), Sandy EL-BITAR (1), Youmna GHALEB (1), Mathilde VARRET (1), Sylvie ODENT (7), Laurence FAIVRE (8), Sophie DUPUIS-GIROD (9), Sophie NAUDION (10), Thomas EDOUARD (11), Laurence BAL (12), Olivier MILLERON (5), Marie-Paule JACOB (1), Chantal STHENEUR (5), Laurent GOUYA (5), Jean-François DELEUZE (6), Emmanuelle GENIN (13), Guillaume JONDEAU (5), Catherine BOILEAU (1)

1. Laboratory for Vascular Translational Science, INSERM U1148, CHU X. Bichat, Paris, France
2. INSERM U946, CHU X. Bichat, Paris, France
3. Fondation FondaMental, Institut Pasteur, Paris, France
4. Département de Génétique, CHU X. Bichat, Paris, France
5. Centre National de Référence syndrome de Marfan et syndromes apparentés, CHU X. Bichat, Paris, France
6. Institut de Génétique, Centre National de Génotypage, CEA, Evry, France
7. Service de Génétique, CHU Rennes, Rennes, France
8. Service de Génétique, CHU Dijon, Dijon, France
9. Service de Génétique, CHU Hôtel-Dieu, Lyon, France
10. Service de Génétique, CHU Bordeaux, Bordeaux, France
11. Service de Pédiatrie, CHU Toulouse, Toulouse, France
12. Centre Aorte Timone, CHU La Timone, Marseille, France
13. INSERM U1078, CHRU Brest, Brest, France

**Mots clefs :** gènes modificateurs, variabilité, syndrome de Marfan

#### Résumé :

La variabilité clinique est observée dans de nombreuses maladies mendéliennes entraînant des phénotypes différents y compris parmi les individus porteurs d'une même mutation. Cette variabilité est expliquée par l'effet combiné de l'environnement et de gènes modificateurs. L'identification de ces gènes modificateurs reste difficile malgré l'accessibilité d'outils de séquençage génomique puissants, du fait de la taille réduite des échantillons disponibles. A ce jour, seules des études en gène candidat ont permis de mettre en évidence des variants modificateurs dans un nombre limité de pathologies.

Le syndrome de Marfan (MFS) est une maladie rare de transmission autosomique dominante, très majoritairement liée à des mutations dans le gène codant pour la fibrilline-1 (*FBN1*). Son atteinte est plurisystémique avec notamment des anévrismes de l'aorte ascendante avec risque de dissection aortique. Le syndrome est caractérisé par une grande variabilité clinique. La seule relation génotype-phénotype connue est le lien entre des formes néonatales de MFS et des mutations dans les exons 24 à 32. A ce jour il n'existe aucun facteur pronostique permettant de prédire l'évolution de la maladie.

1070 sujets porteurs de mutation dans *FBN1* sont suivis au Centre National de Référence pour le MFS. Bien qu'il s'agisse d'un nombre assez élevé de patients, ce nombre permet seulement de constituer une cohorte de découverte. De plus, la progression de l'anévrisme de l'aorte ascendante se produit de manière non linéaire tout au long de la vie. Il est donc impossible de prédire son évolution et donc de comparer les sujets d'âge différent au sein de la cohorte. Pour contourner ces deux difficultés, une stratégie par approche croisée a été entreprise. 102 individus ont été inclus dans une étude de phénotypes aortiques extrêmes (5<sup>ème</sup> et 95<sup>ème</sup> percentiles de gravité). Ils ont bénéficié d'un séquençage d'exome à la recherche de variants rares et d'une étude d'association sur données de génotypage. Parallèlement, 14 fratries de même sexe présentant une atteinte aortique discordante ou concordante sévère ont été étudiées grâce à une analyse de liaison complétée par une étude d'association sur régions candidates. Enfin, une étude d'association eQTL (expression Quantitative Trait Locus) a été réalisée à partir de données d'expression du gène *FBN1* sur 80 fibroblastes cutanés de sujets MFS porteurs de mutations tronquantes. Plusieurs de ces approches ont donné des résultats statistiquement significatifs et leur croisement a permis de mettre en évidence 3 loci modificateurs retrouvés dans au moins 2 types d'approches. L'un des loci contient notamment un gène dont les mutations sont connues pour être responsables d'anévrisme de l'aorte ascendante familial.

L'utilisation de différentes méthodes génomiques en approche croisée est donc une stratégie innovante et efficace pour l'identification des facteurs qui sous-tendent la variabilité clinique dans les maladies rares.

## GÉNÉTIQUE FORMELLE, GÉNÉTIQUE DES POPULATIONS ET MALADIES COMPLEXES

**#3112 : Association effets indésirables de l'acide valproïque-profil génétique, au cours du traitement de l'épilepsie : revue systématique et méta-analyse.**

### Auteurs :

Malek CHOUCHE (1), Samir ENNIGROU (2), Abdelmajid BEN HAMIDA (2), Lamia HILA (3)

1. Département de génétique, Faculté de Médecine de Tunis Université Tunis El Manar, Tunis, Tunisie
2. Département de médecine préventive et épidémiologie, Faculté de Médecine de Tunis Université Tunis El Manar, Tunis, Tunisie
3. Département de Génétique, Faculté de Médecine de Tunis Université Tunis El Manar, Tunis, Tunisie

**Mots clefs :** Epilepsie, Acide valproïque, Polymorphismes, Effets indésirables, Méta-analyse.

### Résumé :

La réponse aux traitements anti-épileptiques présente une variabilité inter-éthnique importante. Cette variabilité est due essentiellement à la composante génétique. L'acide valproïque est un anti-épileptique largement utilisé en raison de ses nombreux effets thérapeutiques mais induisant parfois des effets indésirables (EIs). Plusieurs polymorphismes associés à ces EIs ont été décrits dans la littérature.

Une recherche bibliographique a été réalisée sur Pubmed sur une période de 15 ans, allant de Janvier 2000 à Janvier 2015. Parmi les 41 articles retrouvés seuls 10 correspondaient à nos critères d'inclusion. Pour chaque article retenu, les données suivantes : auteur, année de publication, ethnicité, critères démographiques, types d'effets indésirables de l'acide valproïque, nombre de cas et de contrôles, ont été extrait indépendamment par deux chercheurs.

Ces variations ont été rasemblées dans le but de réaliser une méta-analyse. Les fréquences alléliques et génotypiques correspondants à chaque variation retrouvée seront analysées par le logiciel « Forest plot » afin d'évaluer la contribution de chacune d'entre elles dans la toxicité observée chez les patients traités à l'acide valproïque : l'odds ratios (ORs) correspondant à 95% d'intervalle de confiance (IC), sera calculé en utilisant un modèle d'effets aléatoires et l'analyse sera faite en sous-groupes en se basant sur l'ethnicité.

La présence ou l'absence de corrélation entre les polymorphismes rapportés et les divers EIs pour chaque groupe ethnique seront discutés. Ces résultats permettront de recommander le génotypage de ces biomarqueurs chez les groupes de patients d'une ethnologie particulière qui présentera une association significative.

## GÉNÉTIQUE FORMELLE, GÉNÉTIQUE DES POPULATIONS ET MALADIES COMPLEXES

**#3139 : Maladie de Hirschsprung : l'approche génomique par séquençage de nouvelle génération permet l'identification de variants rares dans un modèle oligogénique.**

### Auteurs :

Thuy-Linh LE (1), Anna Pelet (1), Maladie de Hirschsprung Consortium International (1), Olivier Alibeu (2), Christine Bole-Feysot (2), Cécile Fourrage (3), Patrick Nitschke (3), Jeanne Amiel (1), Stanislas Lyonnet (1)

1. Laboratoire d'Embryologie et Génétique des Malformations Congénitales, Institut Imagine - INSERM 1163, Paris, France
2. Plateforme Génomique, Institut Imagine - INSERM 1163 - SFR Necker, Paris, France
3. Plateforme Bioinformatique, Institut Imagine - Université Paris Descartes, Paris, France

**Mots clefs :** Hirschsprung, génétique complexe, modèle non mendélien, variant rare, NGS

### Résumé :

La maladie de Hirschsprung (MH) est une neurocristopathie, caractérisée par l'absence des plexus nerveux autonomes myentériques et sous-muqueux le long de l'intestin. Elle présente une expression variable selon la longueur de l'aganglionose : forme courte (80% des cas) et forme longue (20%), et un mode de transmission complexe, oligogénique ou autosomique dominant avec pénétrance incomplète avec un fort biais de sex-ratio (4 garçons : 1 fille). Des mutations codantes sévères entraînant une haploinsuffisance de *RET* causent la MH, alors que des allèles hypomorphes au même locus requièrent l'association d'autres variations. Ainsi, un polymorphisme intronique prédisposant (rs2435357 C > T IVS-1 de *RET*) est majoritairement homozygote chez les garçons atteints de forme courte et sporadique, alors que des mutations de la séquence codante de *RET* sont plutôt trouvées dans des formes longues et familiales touchant également les filles. Mais ces résultats restent insuffisants pour expliquer l'héritabilité de la MH ainsi que la pénétrance incomplète et dépendante du sexe des allèles mutés au locus *RET*. Nous avons proposé une approche génomique par séquençage de nouvelle génération (NGS), afin d'identifier des variants rares de gènes impliqués dans la MH. Notre cohorte est composée de 196 familles atteintes d'origine caucasienne et 140 d'origine asiatique, du fait de la prévalence contrastée de la MH dans ces deux fonds génétiques. Un total de 93 gènes candidats a été sélectionné selon: *i*) l'implication dans la MH décrite dans la littérature ou des modèles murins d'aganglionose; *ii*) le rôle dans les voies de signalisation de RET et/ou des endothélines; *iii*) les résultats des études d'association pangénomique de garçons de forme courte et le séquençage d'exome en trio de filles de forme longue (données soumises). Les séquences ciblées ont été capturées par un kit Agilent Sure-Select et le NGS a été effectué sur une plateforme Illumina. Toutes les variations au locus *RET*, codantes et non codantes, ont été répertoriées, et les variants rares d'autres gènes (fréquence < 1% selon ExAC) ont été sélectionnés pour le burden test. Les gènes associés statistiquement à la MH ou portant les variants convainquants ont été ou seront testés dans le modèle zebrafish selon: *i*) la prédiction d'anomalie d'épissage ou d'effet délétère sur la fonction de la protéine; *ii*) la localisation dans des régions conservées; *iii*) le caractère *de novo*. Les résultats préliminaires sur 96 patients ont conduit à l'identification de 59 variants rares dans 36 gènes candidats, dont une mutation stop *de novo* du gène *NRG1*, un bon candidat à valider par des tests fonctionnels. De plus, une combinaison de variations prédites délétères, héritées de parents sains, des gènes *SEMA3A*, *COL6A3* et *RET* suggère un effet épistatique. Ces résultats vont dans le sens d'une grande hétérogénéité des loci avec variants rares dans un modèle d'hérédité complexe avec gène majeur connu.

**Auteurs :**

Hervé Perdry (1), Claire Dandine-Roulland (1)

1. UMR-S 1178, Université Paris-Sud, Villejuif, France

**Mots clefs :** Package R, Données génotypiques, Modèles mixtes, GWAS, Héritabilité

**Résumé :**

Le package *gaston*, disponible sur le CRAN, offre des fonctions manipulant efficacement des grandes matrices de génotypes (SNPs), ainsi que l'implémentation d'algorithmes pour les modèles linéaires mixtes couramment utilisés pour estimer l'héritabilité ou réaliser des tests d'association.

Grâce aux packages *Rcpp*, *RcppParallel*, *RcppEigen*, les fonctions de *gaston* sont principalement écrites en C++. Beaucoup de ces fonctions sont parallélisées pour une efficacité accrue.

**Manipulation de données génétiques**

*Gaston* définit une classe S4 appelée *bed.matrix* pour la manipulation de matrices de génotypes où chaque ligne correspond à un individu et chaque colonne à un SNP. Un génotype est codé sur 2 bits, pour limiter la mémoire occupée. Ces matrices se manipulent comme les matrices de R (on peut en particulier en extraire des sous-matrices avec la syntaxe de R). La conversion entre *bed.matrix* et matrices de R est possible.

*Gaston* lit des fichiers au format BED ou VCF, et après manipulation des données peut les sauver au format BED ou dans un format propre.

**Description des données et contrôle qualité**

*Gaston* permet de faire le contrôle qualité avec toute la souplesse de R. Des fonctions calculent des statistiques descriptives (fréquence de l'allèle mineur, call-rate, etc) ou testent l'équilibre de Hardy-Weinberg ( $\chi^2$  ou test exact). Ces statistiques sont classiquement utilisées pour supprimer les échantillons de mauvaise qualité et les SNPs mal génotypés.

**Déséquilibre de liaison, matrice d'apparentement**

Des fonctions permettent d'estimer le déséquilibre de liaison (DL) entre les SNPs d'une région du génome, et de sélectionner sur tout ou partie du génome un jeu de SNPs en faible DL.

*Gaston* permet également d'estimer la matrice d'apparentement génomique  $K$  entre les individus. Les vecteurs propres de cette matrice sont les composantes principales des données et permettent de détecter la présence d'une stratification de population, ou d'individus étrangers à la population étudiée.

**Modèle mixte : héritabilité, test d'association**

Considérons un modèle de la forme

$$Y = X\beta + \omega_1 + \dots + \omega_k + \varepsilon$$

où  $Y$  est le trait étudié,  $X$  la matrice des covariables avec effets fixes  $\beta$ , les  $\omega_i$  sont des effets aléatoires de variance  $\tau_i K_i$  ( $i = 1, \dots, k$ ) et  $\varepsilon$  est une erreur résiduelle de variance  $\sigma^2 I_n$ .

Plusieurs algorithmes sont proposés pour estimer les paramètres de ce modèle, dont le classique AIREML (Gilmour et coll. 1995). Si  $k = 1$ , un algorithme rapide basé sur la décomposition en vecteurs propres de  $K$  est également disponible.

Les applications habituelles de ce modèle sont d'estimer l'héritabilité de  $Y$  (avec  $k = 1$  et  $K$  une matrice d'apparentement), ou d'en tester l'association avec un pathway ou une région génomique (test de type SKAT).

On peut également tester l'association avec  $Y$  de tous les SNPs du génome un par un, en incluant un terme aléatoire pour prendre en compte une composante polygénique (de façon analogue à ce que fait GEMMA).

## GÉNÉTIQUE FORMELLE, GÉNÉTIQUE DES POPULATIONS ET MALADIES COMPLEXES

**#3234 : Le syndrome CAPOS : une ataxie cérébelleuse épisodique de l'enfance avec aréflexie et déficits auditif et visuel, en plein essor diagnostique.**

### Auteurs :

Francis RAMOND (1), Alice KUSTER (2), Gaetan LESCA (3), Stéphane CHABRIER (4), Armelle MAGOT (2), Matthieu SEVIN-ALLOUET (2), Jean-Christophe ANTOINE (5), Yann PEREON (2), Renaud TOURAINE (1)

1. Génétique clinique, chromosomique, et moléculaire, CHU de Saint-Etienne, Saint-Etienne, France
2. Réanimation néonatale, CHU de Nantes, Nantes, France
3. Génétique Moléculaire, Groupement Hospitalier Edouard Herriot, Lyon, France
4. Médecine physique et réadaptation, CHU de Saint-Etienne, saint-etienne, France
5. Neurologie, CHU de Saint-Etienne, Saint-etienne, France

**Mots clefs :** CAPOS/CAOS, ataxie intermittente de l'enfance, aréflexie, surdité, déficit visuel, pes cavus, case report

### Résumé :

Le syndrome CAPOS (Cerebellar ataxia, Areflexia, Pes cavus, Optic atrophy, and Sensorineural hearing loss) se caractérise par une ataxie cérébelleuse épisodique déclenchée par l'hyperthermie, survenant dès l'enfance et entrecoupée de périodes de lente rémission, associée à une aréflexie totale puis à une atteinte progressive neurogène des fonctions visuelles et auditives.

Il s'agit d'une pathologie à transmission autosomique dominante, résultant de la mutation récurrente c.2452G > A du gène *ATP1A3*, qui code pour la sous-unité alpha3 d'une pompe Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase, impliquée dans le maintien du potentiel électrique membranaire neuronal, notamment au niveau synaptique.

D'autres mutations de ce gène ont été identifiées auparavant, et sont à l'origine de pathologies neurologiques distinctes mais partiellement recouvrantes : l'hémiplégie alternante de l'enfance (AHC) et le syndrome rapid-onset dystonia-parkinsonism (RDP).

La caractérisation moléculaire n'ayant été établie que très récemment, vingt ans après une description clinique unique, il n'existe à ce jour qu'un nombre restreint de cas dans la littérature. Certains éléments de définition du syndrome sont actuellement débattus, à mesure que de nouveaux cas sont rapportés.

Nous décrivons ici le cas de deux familles d'origine ethnique distincte, issus de deux centres français.

- La première famille comporte un père et deux enfants atteints. Les enfants présentent des tableaux typiques du syndrome CAPOS, associant dès l'enfance des épisodes d'ataxie secondaires à l'hyperthermie, une aréflexie, et des troubles visuels et auditifs. La sévérité des épisodes aigus est cependant remarquable, avec notamment des passages en réanimation avec coma. De plus, ces enfants présentent un retard dans l'acquisition du langage, jusqu'ici non rapportée en cas de syndrome CAPOS. Leur père présente un tableau atypique avec syndrome choréo-athétosique en plus de l'atteinte sensorielle sévère. Aucun des individus atteints n'a de *pes cavus* (pied creux).

- La seconde famille comporte dix individus atteints, sur 3 générations. Le cas index est une fille de 6 mois ayant présenté un coma lors d'une gastroentérite, avec au réveil mise en évidence d'une ataxie avec aréflexie. Une surdité est connue chez le père et ses deux soeurs qui ont chacun un enfant ayant présenté un épisode aigu d'ataxie. La grand-mère et sa fratrie présentent une surdité avec malvoyance. L'aréflexie est retrouvée chez tous les sujets ayant pu être examinés, et aucun n'a de *pes cavus*.

La description clinique détaillée de ces familles permet de mieux préciser le spectre d'atteinte du syndrome CAPOS, avec notamment le *pes cavus* qui n'apparaît plus comme un signe majeur, l'existence d'une gravité potentielle dans l'enfance à l'occasion des épisodes hyperthermiques, et des éléments pronostics sur l'évolution à l'âge adulte. Enfin, des pistes thérapeutiques sont envisageables, notamment par prévention des accès de fièvre.

## GÉNÉTIQUE FORMELLE, GÉNÉTIQUE DES POPULATIONS ET MALADIES COMPLEXES

**#3300 : Réduction du volume de structures cérébrales et du nombre d'épines dendritiques de la région CA1 de l'hippocampe par création de trisomies segmentaires synténiques à la région D21S17-ETS2 (HSA21) chez un modèle murin du syndrome de Down.**

### Auteurs :

Pierre L. Roubertoux (1), Nathalie Baril (2), Pierre Cau (3), Walter Pinoteau (4), christophe Scajola (3), adeline Ghata (5), Julie di Christofaro (6), Michèle Carlier (7)

1. INSERM, U 910, Génétique Médicale et Génomique Fonctionnelle, AMU, , Marseille , France
2. Fédération 3C, AMU, , Marseille , France
3. inSERM, U 910, Génétique Médicale et Génomique Fonctionnelle, AMU, , Marseille , France
4. Institut de transgénomose, , Orléans, France
5. INSERM, U 910, Génétique Médicale et Génomique Fonctionnelle, AMU, , marseille , France
6. EFS, ADES UMR 7268, AMU, , Marseille , France
7. CNRS, LPC UMR 7290, Fédération de recherche 3C, , Marseille , France

**Mots clefs :** trisomie 21, syndrome de Down, souris, transgénomose, IRM, hippocampe, cortex, cervelet, dendrites

### Résumé :

L'imagerie cérébrale ou l'histologie post mortem de personnes porteuses de trisomie 21 montre une réduction volumétrique de structures cérébrales (hippocampe, cervelet, cortex associatif préfrontal), une augmentation de la taille des ventricules cérébraux et une baisse du nombre d'épines dendritiques dans différentes structures. Nous modélisons l'association d'une trisomie partielle de la région synténique à D21S17-ETS2 (HSA21) avec le volume des structures cérébrales et le nombre d'épines dendritiques (région CA1 de l'hippocampe). Quatre lignées portant des fragments contigus et couvrant D21S17-ETS2 sont utilisées : 131E8, 142 G6, 152 F7 et 251 E6. Elles sont comparées à la lignée Ts65Dn qui porte une triple copie de MMU16, seule région synténique murine de HSA21 associée à des troubles cognitifs et à une lignée euploïde. L'analyse volumétrique du cerveau est réalisée par la méthode stéréologique de Cavalieri (24 coupes coronales obtenues avec un spectromètre BRUKER Biospin, 7-Teslas). Le nombre d'épines dendritiques est compté dans la région CA1 (Axioplan 2, Axiocam et Image J Software - NIH). Les différences observées sont exprimées en terme d'importance de la différence (taille d'effet). La réduction du volume de l'hippocampe et du cervelet approche, chez les 4 trisomies segmentaires, celle observée chez Ts65Dn. Le volume des ventricules ne diffère pas de celui des Ts65Dn. Le striatum et le cortex ne sont pas affectés par les trisomies segmentaires mais le sont par une trisomie complète de MMU16. La chute du nombre d'épines dendritiques est présente chez toutes les lignées mais elle est maximale pour le fragment 152F7 chez qui elle atteint la chute observée chez Ts65Dn. La triplification de fragments couvrant la région D21S17-ETS2 reproduit les principales altérations du volume de structures cérébrales et du nombre de dendrites rapportées chez les patients. La relation entre les anomalies histologiques ou volumétriques et les troubles cognitifs observés chez ces lignées est discutée.

## GÉNÉTIQUE FORMELLE, GÉNÉTIQUE DES POPULATIONS ET MALADIES COMPLEXES

#3312 : ACVRL1 joue un rôle critique dans les atteintes hépatiques de la maladie de Rendu-Osler

### Auteurs :

Sophie GIRAUD (1), Claire BARDEL-DANJEAN (2), Sophie DUPUIS-GIROD (3), Mélanie EYRIES (4), Brigitte GILBERT-DUSSARDIER (5), Claudia PAEZ (3), Alain KITZIS (6), Alain CALENDER (1), Gaëtan LESCA (1)

1. Service de Génétique Moléculaire et Clinique, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
2. UMR 5558, LBBE, Service de Biostatistique et plateforme de séquençage NGS, CNRS, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
3. Service de Génétique et Centre de Référence pour la Maladie de Rendu-Osler, Hospices Civils de Lyon - Groupe Hospitalier Est, Lyon, France
4. Laboratoire d'Oncogénétique et Angiogénétique Moléculaire, UMR 956 INSERM, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris GH Pitié-Salpêtrière, Université Pierre et Marie Curie, Paris, France
5. Service de Génétique Médicale, Centre Hospitalier Universitaire de Poitiers - CHU la Milétrie, Poitiers, France
6. Service de GénétiqueCHU, Centre Hospitalier Universitaire de Poitiers. la Milétrie, Poitiers, France

**Mots clefs :** SNP, gène modificateur

### Résumé :

La maladie de Rendu-Osler (RO), à transmission autosomique dominante, prédispose à des malformations artério-veineuses, se manifestant par l'association d'épistaxis, de télangiectasies cutanéomuqueuses et de malformations artério-veineuses viscérales touchant les poumons, le système digestif, le système nerveux central et le foie. Les manifestations hépatiques pourraient affecter 57% des patients, de lésions modérées asymptomatiques aux manifestations chroniques pouvant nécessiter une transplantation. Les mutations des gènes *ENG* et *ACVRL1* sont responsables de 90% des cas de maladie de RO, entraînant respectivement plus de complications pulmonaires et plus de complications hépatiques ; toutefois il existe une grande variabilité clinique inter et intrafamiliale, suggérant l'existence de gènes modificateurs. Le rôle de certains SNP dans *ENG* et *ACVRL1* a été suggéré dans des études récentes.

Nous avons sélectionné 354 patients, porteurs d'une mutation des gènes *ENG* et *ACVRL1* et explorés sur le plan hépatique. Les patients ont été séparés en fonction de leur atteinte hépatique suivant la classification de Gincul et al de 2008 : stade 1 pour les patients sans atteinte hépatique, stades 2 et 3 respectivement pour les patients avec une atteinte hépatique moyenne ou sévère. Nous avons génotypé chez eux 50 SNPs couvrant 9 gènes impliqués dans la voie du TGF-beta, à la recherche de gènes modificateurs. Nous avons testé l'association entre ces SNPs et l'atteinte hépatique (stade 1 vs stades 2+3) par un modèle de régression logistique à effet mixte, permettant ainsi de prendre en compte les relations de parenté entre les individus (package R Pedigreemm, A Vazquez, 2010).

Nous retrouvons une association significative entre le sexe féminin, une mutation dans *ACVRL1* et les atteintes hépatiques sévères. Chez les porteurs d'une mutation dans *ACVRL1* uniquement, la proportion de mutations tronquantes augmente avec la gravité de l'atteinte hépatique.

Parmi les 50 SNPs testés, 6 montrent une association à l'atteinte hépatique, situés respectivement au niveau des gènes *ACVRL1* (n=4), *ENG* (n=1) et *SMAD5* (n=1). Si l'on considère les sous-groupes de patients porteurs de mutation du gène *ACVRL1* ou du gène *ENG*, on retrouve une association respectivement avec 3 et 2 SNPs, différents entre ces deux groupes. Après correction de Bonferroni pour les tests multiples, un SNP intronique de *ACVRL1* (rs2277383) montre une association significative à l'atteinte hépatique, non expliquée par un déséquilibre de liaison avec la mutation pathogène.

Nous confirmons dans ce travail le rôle majeur du gène *ACVRL1* dans le déterminisme des atteintes hépatiques de la maladie de RO ; le type de mutation et la présence de polymorphismes de ce gène pourraient participer à la variabilité du phénotype hépatique. Ces résultats laissent supposer un rôle de gènes modificateurs différents chez les porteurs de mutations *ENG* ou *ACVRL1*, ce qui est conforme avec les données récentes de la littérature.

#3313 : High frequency of intermediate alleles of fragile X mental retardation 1 gene (FMR1) in candidate  
for oocyte donation

**Auteurs :**

Juan José Guillén (1), Amelia Rodriguez Aranda (1), Valérie Vernaeve (1), Rita Vassena (1)

1. PMA, Clinica Eugin, Barcelone, Espagne

**Mots clefs :** Fragile X, oocyte donation, screening

**Résumé :**

**Objective:** The availability of preconception screening for X-linked and recessive diseases offers the unprecedented opportunity to lower the risk to conceive an affected child. Genetic matching of donors and patients further improves ART service; however, the donor selection process might alter expected frequencies of certain diseases, potentially leading to variations of pretest risk. Fragile X syndrome (FXS), is the most common cause of inherited intellectual disability affecting approximately 1:4000-1:6000 births. FXS is caused by the expansion of CGG repeats in the FMR1 gene, and depending on CGG repeats number the population has been classified into: normal (N): 5-44 repeats, intermediate allele (IA): 45-54, premutation (PM): 55-200, and full mutation (FM): >200. People with PM or FM could develop clinical symptoms and transmit the disease to the next generation. IA alleles do not confer an increased FXS risk for the very next generation, however, the 50-54 range may show instability, with potential expansions in subsequent generations. The aim of the study is to assess carrier status and ethnic variation of the FMR1 gene in oocyte donation candidates.

**Design:** Retrospective consecutive cohort study.

**Material and Methods:** 1076 oocyte donation candidates aged 18 to 35 years were tested for FXS (Asuragen Amplidex FMR1) between January and October 2015. Women with a family history of FXS, mental retardation, chromosomal abnormalities, genetics disorders or neurological conditions were excluded from further screening. All women diagnosed with 45 or more CGG repeats were referred to genetic counseling. Relative frequency of IA status by ethnicity was assessed by Chi<sup>2</sup> test, while a logistic regression was employed to assess the association between IA status and ovarian reserve, adjusted by age.

**Results:** Women ethnicities were: European 743 (69%), Latin Americans 186 (17%), Caribbean 81 (7%), African 44 (4%) and Asian 22 (2%). There were 41 IA carriers (1:26 overall), 33 had 45-49 CGG, while 8 had 50-54 CGG, and 6 PM alleles carriers meaning a frequency of 1:179. IA status was not associated with the woman ovarian reserve (p>.05).

**Conclusions:** We have a high intermediate alleles frequency. The vast majority of our mutations are in people from Spain and the Dominican Republic. Premutation frequency is in line with other studies.

## GÉNÉTIQUE FORMELLE, GÉNÉTIQUE DES POPULATIONS ET MALADIES COMPLEXES

#3365 : RMGH, « Revue Méditerranéenne de Génétique Humaine » : Pourquoi une revue Méditerranéenne de Génétique Humaine ?

### Auteurs :

Andre MEGARBANE (1), Valérie DELAGUE (2)

1. Unité de Génétique Médicale, Faculté de Médecine, Université Saint Joseph, , Beyrouth, Liban
2. Inserm UMR\_S 910, GMGF, Aix Marseille Université, marseille, France

**Mots clefs :** revue, publication, Méditerranée, consanguinité, récessif

### Résumé :

La sensibilisation aux problèmes liés aux maladies génétiques est essentielle dans les pays du sud de la Méditerranée. En effet, en dépit des forts taux de consanguinité dans les pays du sud de la Méditerranée, les maladies génétiques ne sont pas encore considérées comme un problème de santé publique majeur dans ces pays. Nos différents travaux ont montré que les pathologies rencontrées dans les pays du sud de la Méditerranée sont souvent spécifiques de cette région. Malheureusement, les résultats des études de mutations dans les pathologies spécifiques du bassin Méditerranéen, du Moyen-Orient et du Maghreb, ne sont pas publiés dans des revues internationales, étant considérées sans intérêt pour les pays du reste du monde (en particulier l'Europe occidentale et l'Amérique du Nord). Il est néanmoins de plus en plus clair que la prévention de ces maladies, par le biais d'un diagnostic et d'un conseil génétique appropriés, pourra permettre une forte diminution de la morbidité, non seulement dans les pays du Sud, mais également dans les pays du Nord de la Méditerranée, qui font face à des flux migratoires importants en provenance de ces pays. De façon très concrète, les maladies génétiques rares étant souvent très hétérogènes, la recherche du défaut génétique à l'origine de la pathologie peut souvent s'avérer longue, coûteuse et fastidieuse. Ainsi, une meilleure connaissance de ces maladies, via une diffusion plus large, au travers, notamment, de revues telles que celle que nous souhaitons développer, pourra permettre d'orienter le diagnostic vers certaines formes de maladies et de déterminer plus rapidement la cause de la pathologie chez ces patients. Par ailleurs, certains problèmes éthiques, liés à des facteurs socioculturels régionaux mériteraient de pouvoir être discutés. Dans un contexte de développement et d'améliorations des relations « Nord-Sud », il nous semble primordial de pouvoir favoriser les échanges scientifiques et la publication de travaux de recherche issus de ces pays.

A l'initiative de l'Agence Universitaire de la Francophonie, nous avons donc décidé de créer une revue de génétique humaine francophone, en ligne, intitulée Revue Méditerranéenne de Génétique Humaine. Le site de la revue est accessible sur le lien [www.rmgh.org](http://www.rmgh.org). Le premier numéro est paru en avril 2010. La revue n'ayant pas de version papier, aucun frais de publication n'est appliqué. Les articles sont téléchargeables gratuitement. La revue est équipée d'un système de soumission en ligne. Tous les articles font l'objet d'une expertise par des spécialistes du domaine. A la sortie du deuxième numéro, nous espérons pouvoir faire indexer la revue, afin d'encourager la soumission d'articles, revues, nouvelles. Nous vous invitons à vous rendre sur le site, et à nous soumettre vos contributions, afin de faire de cette revue un espace d'échange pour la génétique en Méditerranée.

## GÉNÉTIQUE FORMELLE, GÉNÉTIQUE DES POPULATIONS ET MALADIES COMPLEXES

#3387 : Etude de grands gènes avec homologues par NGS : exemple de l'HYDIN - écueils et validation de la méthode

### Auteurs :

Florence Dastot-Le Moal (1), Philippe Duquesnoy (2), Bruno Copin (1), Guy Montantin (1), Jean-François Papon (3), Sylvain Blanchon (4), Esther Kott (2), Raphaël Chiron (5), Antony Terance (6), Jacques de Blic (7), André Coste (8), Estelle Escudier (9), Serge Amselem (9), Marie Legendre (9)

1. U.F. de Génétique moléculaire (Assistance Publique – Hôpitaux de Paris), Hôpital Trousseau, Paris, France
2. Inserm, Sorbonne Universités UPMC Univ Paris 06, UMRS\_933, Hôpital Trousseau, Paris, France
3. Inserm UMR\_S955, Equipe 13, Université Paris-Est Créteil & Service d'Oto-Rhino-Laryngologie et de Chirurgie Cervico-Maxillo-Faciale (Assistance Publique – Hôpitaux de Paris), Hôpital Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France
4. Unité de pneumologie et allergologie pédiatrique, Hôpital des Enfants CHU de Toulouse, Toulouse, France
5. Service des maladies respiratoires, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
6. Paediatric Pulmonology, G. Kuppuswamy Naidu Memorial Hospital, Coimbatore, Inde
7. Service de Pneumologie et Allergologie Pédiatriques (Assistance Publique – Hôpitaux de Paris), Hôpital Necker, Paris, France
8. Service d'Oto-Rhino-Laryngologie et de Chirurgie Cervico-Faciale (Assistance Publique – Hôpitaux de Paris), Hôpital Intercommunal de Créteil et Hôpital Henri-Mondor, Créteil, France
9. Inserm, Sorbonne Universités UPMC Univ Paris 06, UMRS\_933 & U.F. de Génétique moléculaire (Assistance Publique – Hôpitaux de Paris), Hôpital Trousseau, Paris, France

**Mots clefs :** NGS, Hardy Weinberg, validation de méthode, dyskinésie ciliaire primitive, HYDIN

### Résumé :

Les dyskinésies ciliaires primitives (DCP) sont des maladies respiratoires rares récessives associées dans la moitié des cas à un *situs inversus* et dues à des anomalies de structure et/ou de fonction des cils mobiles. L'axonème, cytosquelette interne des cils mobiles, est formé de 9 doublets de microtubules périphériques où sont accrochés les bras de dynéine, et d'un complexe central constitué d'une paire de microtubules et d'une gaine multiprotéique. Des anomalies de l'ultrastructure ciliaire sont retrouvées chez la majorité des patients atteints de DCP. Cependant, chez environ un tiers des patients, les anomalies de l'ultrastructure sont subtiles ou absentes. L'hétérogénéité du phénotype ultrastructural reflète la grande hétérogénéité génétique des DCP pour lesquelles les 31 gènes impliqués actuellement expliquent la pathologie chez environ la moitié des patients.

La transition vers le NGS a rendu possible l'étude de plusieurs gènes de DCP de très grande taille peu accessibles au séquençage Sanger. L'analyse du gène *HYDIN* (86 exons, 16q22.2) demeure cependant délicate en raison de l'existence d'un pseudogène (*HYDIN2*, 1q21.1) qui présente environ 90% d'homologie nucléotidique avec les exons 6 à 84 de *HYDIN*. *HYDIN* code pour une protéine de la gaine centrale et n'avait été impliquée que dans 4 familles (deux mutations : c.922A > T et c.3985G > T). Notre laboratoire a développé un panel ciblé DCP (capture) comportant la totalité des gènes impliqués ainsi que des gènes candidats.

La spécificité de l'analyse du gène *HYDIN* par cette technique de capture a été évaluée par 3 approches : i) validation a priori par la caractérisation de polymorphismes connus dans les 3 statuts (homozygote, hétérozygote, absent), ii) validation a priori sur la base du respect de la loi de Hardy Weinberg pour la distribution des polymorphismes fréquents, iii) confirmation des variations mises en évidence en NGS par séquençage Sanger. Cette étude a permis de caractériser 9 nouvelles mutations non ambiguës (p.(Arg197\*), p.(Arg224\*), p.(Arg951\*), c.(8005-745)\_8346del, p.(Arg383Asnfs\*19), p.(Arg3970\*), p.(Leu409Trpfs\*20), c.11472-750\_12129+181del, c.13242+1G > T) de 7 familles indépendantes. A l'exception d'un patient, les cas index portaient des mutations bi-alléliques. La discrimination entre la localisation sur *HYDIN* ou *HYDIN2* des mutations identifiées a été réalisée par lecture par contiguïté lorsque la mutation et une différence de séquence *HYDIN/HYDIN2* proche étaient localisées dans les mêmes reads de NGS. L'ensemble des mutations identifiées étant situé dans des régions avec homologie, le caractère hétérozygote ou homozygote du génotype a été évalué en calculant le ratio global des reads alignés indistinctement sur le gène ou son pseudogène. Au total, cette étude a permis de confirmer le diagnostic de DCP chez 8 patients qui ne présentent pas de *situs inversus* et dont les anomalies ciliaires sont difficiles à affirmer (absence partielle de la gaine centrale).

**#3409 : Progressive muscular dystrophies child (about 24 case)**

**Auteurs :**

Oussama Kettani (1), Mohamed Ahakoud (1), khadija Belhassan (1), Leila Qebibo (1), Laila Bouguenouch (2), Karim Ouldim (1), khadija Belhassan (1)

1. Unité de génétique médicale et d'oncogénétique, CHU Hassan II, Fès, Maroc
2. Unité de génétique médicale et d'oncogénétique, CHU Hassan II, Fès, France

**Mots clefs :** muscular dystrophy , Sacroglycanoapthy , Molecular test , c.del525T

**Résumé :**

Progressive muscular dystrophy, term proposed by Erb in 1884, form a set of neuromuscular diseases of various etiologies and different severities. These are diseases characterized by progressive degeneration of muscle fibers with a histological formula necrosis refresh characteristic; they also show great phenotypic and genotypic heterogeneity.

In this present study, we were interested to take stock of the Sacroglycanoapthy due to their greater frequency in Morocco and their very close clinical characteristics, as well as the implementation of molecular diagnostics in the Laboratory Molecular Biology.

Based on the received clinical data, 24 patients with progressive muscular dystrophy were analyzed by PCR-SSCP screening SGCG the gene, more particularly by targeting c.del525T mutation in exon 6 of the gene, followed by sequencing of the disputed region.

Molecular tests we conducted showed that approximately 40% of patients had a deletion in the c.del525T SGCG gene in the homozygous state. This frequency clearly showed the molecular level the high frequency of these diseases in our country and stressed the importance of testing a priority in our patients.

The diagnostic approach that we used in our study seems well suited for driving in the first instance in our country, especially as it has the advantage of easily allowing a differential diagnosis.

#3461 : Association entre le variant L162V du gène PPAR-alpha et l'arthrose primitive de hanche

**Auteurs :**

Dewi Guellec (1), Karen Rouault (2), Virginie Scotet (3), Alain Saraux (4), Claude Férec (5)

1. Rhumatologie, CHU Cavale Blanche, Brest, France
2. , Inserm UMR 1078, Etablissement Français du Sang-Bretagne, Brest, France
3. , 2 Inserm UMR 1078, Etablissement Français du Sang-Bretagne, Brest, France
4. , Service de Rhumatologie, EA 2216, Inserm ESPRI, ERI29, Brest, France
5. , Inserm UMR 1078, Etablissement Français du Sang-Bretagne, Laboratoire de génétique moléculaire, Brest, France

**Mots clefs :** Arthrose, séquençage d'exome, PPAR-alpha

**Résumé :**

**Introduction :** La coxarthrose, qui correspond à une dégénérescence du cartilage de la hanche, intègre des formes primitives et des formes secondaires à une anomalie morphologique. Cette pathologie est aujourd'hui définie comme une maladie multifactorielle avec un fort déterminisme génétique. A ce jour, les études génétiques réalisées ont permis de mettre en évidence plusieurs gènes de susceptibilité, expliquant cependant une faible part de son héritabilité. Les stratégies de séquençage à haut-débit, et en particulier le séquençage d'exome, offrent l'opportunité d'étudier le rôle des variants peu fréquents ou rares dans l'héritabilité manquante de la coxarthrose. Notre objectif était d'étudier le rôle de ces variants dans la survenue de la coxarthrose primitive, par une stratégie de séquençage d'exome.

**Population et méthodes :** La population d'étude est basée sur 131 individus issus de la cohorte KHOALA, présentant une coxarthrose symptomatique. Parmi ces individus, 36 cas de coxarthrose primitive ont été définis. Le séquençage d'exome des 13 individus présentant les critères cliniques les plus pertinents a ensuite été réalisé sur un séquenceur Ion Proton™. Parmi les variants identifiés, seuls ceux ayant une MAF < 5 % et prédits comme délétères par SIFT et/ou Polyphen2 ont été sélectionnés. Le test de Fisher a ensuite été appliqué afin de comparer les fréquences alléliques de ces variants entre les 13 individus sélectionnés et la population CEU du projet 1000 Genomes. Les variants d'intérêt ainsi identifiés ont ensuite été caractérisés chez les 131 individus, par séquençage Sanger, ce qui a permis de tester l'association avec la coxarthrose primitive sur l'ensemble de la population.

**Résultats :** Un total de 2367 variants satisfaisant les critères de fréquence et d'impact fonctionnel potentiel ont été identifiés par le séquençage d'exome. Les analyses ont révélé que le variant rs1800206 du gène PPAR-alpha (Peroxisome Proliferator Activated Receptor Alpha) était le plus représenté parmi les 13 individus sélectionnés et significativement associé au trait étudié. Ce variant engendre la substitution d'une leucine en une valine en position 162 (p.L162V). La fréquence de l'allèle mineur de ce variant était de 26,9 % dans la population de 13 individus ayant bénéficié du séquençage d'exome versus 4,3 % dans la population issue du projet 1000 Genomes (odds-ratio [OR] = 8,09 ; IC 95 % = 3,18–20,60 ; p = 3x10<sup>-4</sup>). Sur l'ensemble de la cohorte, le polymorphisme rs1800206 restait significativement associé avec les phénotypes de coxarthrose primitive, sous les modèles dominant (OR = 3,74 ; IC 95 % = 1,42–9,8 ; p = 0,005) et additif ( $\chi^2$  = 8,69 ; p = 0,003).

**Conclusion :** Notre travail suggère que le polymorphisme p.L162V du gène PPAR-alpha est impliqué dans la coxarthrose primitive. Ce résultat montre l'intérêt du séquençage d'exome et de la détermination de sous-phénotypes dans l'étude du déterminisme génétique d'une maladie multifactorielle telle que la coxarthrose.

## GÉNÉTIQUE FORMELLE, GÉNÉTIQUE DES POPULATIONS ET MALADIES COMPLEXES

**#3500 : Etude phylogénétique mitochondriale des populations tunisiennes et leurs relations avec les populations méditerranéennes**

### Auteurs :

Rym KEFI (1), Sana HSOUNA (2), Lilia ROMDHANE (2), Sonia ABDELHAK (1)

1. Service de Typage génétique, Institut Pasteur de Tunis, Tunis, Tunisie
2. Laboratoire de Génomique Biomédicale et Oncogénétique, Institut Pasteur de Tunis, Tunis, Tunisie

**Mots clefs :** ADN mitochondrial, Tunisie, Méditerranée, Phylogénie

### Résumé :

Située au cœur de la Méditerranée, la Tunisie a été depuis la préhistoire le siège de nombreuses vagues de migrations humaines. Toutes ces migrations ont probablement contribué à la composition du paysage génétique de la population Tunisienne actuelle.

#### Objectif :

Dans le but de déterminer la structure génétique de la population actuelle tunisienne, nous avons étudié la variabilité mitochondriale d'une population du Nord de la Tunisie que nous avons comparé à d'autres populations tunisiennes et aux populations méditerranéennes.

#### Populations et méthodes

Le fragment HVS1 de l'ADN mitochondrial (ADNmt) de 100 individus non apparentés, originaires des 11 gouvernorats du Nord de la Tunisie, a été amplifié et séquencé.

Afin d'étudier les relations phylogénétiques entre les populations tunisiennes, un total de 765 séquences mitochondriales de 16 populations tunisiennes a été collecté de la littérature. Ces populations appartiennent à trois groupes ethniques. Des groupes arabophones, des groupes berbérophones et des Andalous.

Nous avons également collecté de la littérature 4206 séquences d'ADNmt en provenance de 45 populations méditerranéennes qui étaient réparties comme suit : 1237 séquences de l'Afrique du Nord, 2738 séquences du Sud de l'Europe et 231 séquences du Proche Orient.

Les analyses statistiques et phylogénétiques ont été effectuées avec les programmes ARLEQUIN et MEGA.

#### Résultats :

A l'échelle de la Tunisie, notre étude a confirmé la grande hétérogénéité génétique de la population tunisienne. Cette grande variabilité a été observée même entre des localités très proches géographiquement. La plus grande diversité haplotypique a été mise en évidence à la capitale Tunis.

Les études statistiques et phylogénétiques n'ont montré aucune différence significative entre le Nord et le Sud de la Tunisie. Aucune différence significative n'a été également observée entre les différents groupes ethniques.

A l'échelle du bassin méditerranéen, la Tunisie possède le plus grand nombre de séquences uniques originales. Les analyses phylogénétiques ont montré que la majorité des populations tunisiennes sont plus proches génétiquement des populations nord africaines et du Proche Orient que des populations européennes. L'exception était observée pour la population berbère du île de Jerba qui se regroupe avec les populations de la Sardaigne et de la Valence.

Les populations berbères de Chenini-Douiret et de Bou Saâd au Sud de la Tunisie sont très différenciées génétiquement des autres populations aussi bien tunisiennes que méditerranéennes. Ces populations se comportent comme des "out-group" sur l'arbre phylogénétique.

## GÉNÉTIQUE FORMELLE, GÉNÉTIQUE DES POPULATIONS ET MALADIES COMPLEXES

#3542 : Criblage du gène FTO pour une meilleure compréhension de son association aux altérations métaboliques dans la population d'Algérie

### Auteurs :

MOHAMED MAKRELOUF (1), Redha Attaoua (2), Linda Douaibia (1), Amel Otmane (1), Mounira Aouadi (1), Akila Zenati (1), Florin Grigorescu (2)

1. Laboratoire de recherche de biochimie génétique, CHU de Bab-El-Oued - Université Alger 1, Alger, Algérie
2. Laboratoire d'Endocrinologie Moléculaire, Equipe NUTRITION&GENOMES, Institut Universitaire de Recherche Clinique, Faculté Médecine, Université Montpellier I, Montpellier, France

**Mots clefs :** syndrome métabolique, SNP, Association génétique, Algérie

### Résumé :

Le gène FTO (*fat mass and obesity associated*) a été associé à l'obésité et à d'autres altérations métaboliques dans différentes populations non-africaines via des SNP (*single nucleotide polymorphisms*) tels que rs1421085 (T/C). Dans les populations d'origine africaine, l'association du gène a été obtenue par des SNP comme rs8057044 (A/G). Des études précédentes ont mis en évidence une composante anthropogénétique complexe des populations d'Afrique du Nord. Dans ce contexte, nous avons étudié l'association du gène FTO aux altérations métaboliques, via les SNP rs1421085 et rs8057044, dans une population d'Algérie bien caractérisée sur le plan métabolique, constituée de 230 individus (213 individus ont été génotypés pour rs1421085). Le génotypage des SNP a été effectué par la technologie KASPar tandis que l'association génétique par régression logistique et la corrélation génotype-phénotype (test non-paramétrique de *Mann-Whitney*), ont été réalisées en utilisant le logiciel StatView. Nous avons constaté l'association du génotype AA de rs8057044 au phénotype obèse chez les individus sans syndrome métabolique (SMet) ( $P = 0,048$  ;  $OR = 2,7 [1,0 - 7,3]$ ) et la corrélation de l'allèle A de ce même SNP avec des taux plus élevés de cholestérol ( $P = 0,005$ ) et de LDL ( $P = 0,026$ ) chez les individus non atteints de SMet. Ce SNP a été lié à plus d'altérations métaboliques dans notre population que le SNP rs1421085, démontrant ainsi l'utilité du criblage du gène FTO via différents marqueurs génétiques pour mieux comprendre son association dans les maladies métaboliques complexes.

## GÉNÉTIQUE FORMELLE, GÉNÉTIQUE DES POPULATIONS ET MALADIES COMPLEXES

#3546 : Utilisation de l'ADN dentaire pour la détermination de l'empreinte génétique humaine.

### Auteurs :

Rym KEFI (1), Sihem BENFADHEL (1), Safa ROMDHANE (1), Sarra BOUHAFI (2), Nadia BENMARZOUK-FRIH (3), Ahmed BENNASSER (4), Mohamed Samir BOUBAKER (1), Sonia ABDELHAK (1)

1. Service de Typage génétique, Institut Pasteur de Tunis, Tunis, Tunisie
2. Centre Militaire de Médecine et Chirurgie Dentaire, , Tunis, Tunisie
3. Service de médecine dentaire, Hôpital Charles Nicolle, , Tunis, Tunisie
4. Service De Médecine Légale Hôpital Charles Nicolle, , Tunis, Tunisie

**Mots clefs :** ADN dentaire, typage génétique, empreinte génétique, identification humaine

### Résumé :

En médecine légale, l'identification humaine peut se faire par les méthodes classiques telles que la reconnaissance visuelle par des apparentés et les empreintes digitales. Cependant pour les cadavres très dégradés ou en décomposition complète, les méthodes d'identification classiques ne sont pas efficaces. Dans ces situations, la détermination de l'identité du corps se fait grâce à l'analyse du profil génétique. Pour les cadavres carbonisés la dent est le seul élément qui peut être conservé et présente ainsi un bon outil aussi bien en odontologie médico-légale qu'en typage génétique.

### Objectif :

Le but de notre travail est de mettre au point un protocole d'extraction et d'analyse de l'ADN récupéré à partir de la dent afin de déterminer l'empreinte génétique permettant l'identification de restes humains très dégradés.

### Matériel et méthodes

Les dents destinées à des analyses moléculaires doivent répondre à de nombreux critères afin d'éviter les problèmes de contamination ou de dégradation de l'ADN. Pour la réalisation de ce travail nous avons sélectionné six dents prélevés sur des personnes vivantes, 13 dents prélevées sur deux cadavres décédés depuis 2 et 13 ans et 9 dents prélevés sur des cadavres carbonisés.

Pour la récupération du matériel biologique deux méthodes ont été utilisées. La première consiste à un broyage manuel de la totalité de la dent. La deuxième méthode consiste à récupérer uniquement la pulpe dentaire par une section longitudinale de la dent.

Pour l'extraction d'ADN, quatre kits commerciaux ont été testés : « Innuprep Forensic Kit », « QIAmp blood and Tissue kit », « Charge Switch@Technology » et « PrepFiler BTA forensic Kit ».

### Résultats :

Nos résultats ont montré que l'utilisation de la pulpe dentaire avec le kit d'extraction « QIAmp blood and Tissue » (commercialisé par Qiagen) fournissent, seulement à partir de dent actuelle, une quantité suffisante d'ADN de bonne qualité qui peut donner un profil génétique mitochondrial et un profil génétique nucléaire (16 marqueurs de type STR). L'authentification des profils génétiques obtenus à partir des dents a été vérifiée par comparaison avec les profils obtenus à partir du sang de la même personne.

D'autre part, nos résultats ont montré que seulement le kit PrepFiler BTA forensic (commercialisé par Life Science) permet d'obtenir à partir de la pulpe dentaire prélevée sur des dents post-mortem, un profil génétique mitochondrial et un profil génétique nucléaire. Ce protocole a été utilisé avec succès pour l'identification de 9 cadavres carbonisés suite à un attentat terroriste.

**Conclusion :** Nous avons développé pour la première fois en Tunisie, un protocole rapide et efficace pour déterminer l'empreinte génétique permettant d'identifier des corps humains en médecine légale. Ce protocole comporte un prélèvement de la pulpe dentaire par section longitudinale de la dent et une extraction d'ADN avec le kit PrepFiler BTA forensic.

## GÉNÉTIQUE FORMELLE, GÉNÉTIQUE DES POPULATIONS ET MALADIES COMPLEXES

#3576 : Distribution des allèles à risque dans des gènes candidats pour le syndrome métabolique dans la population Tunisienne.

### Auteurs :

Elouej Sahar (1), Majdi Nagara (1), Yosra Ben Halima (2), Haifa Jmel (2), Redha Attaoua (3), Mariem Chargui (2), Om Kalthoum Sallem (4), Henda Jamoussi (4), Zinet Turki (5), Ines Kamoun (5), Abdelmajid Abid (4), Claude Ben Slama (5), Florin Grigorescu (3), Rym Kefi (2), Sonia Abdelhak (2)

1. Aix Marseille Université, INSERM, GMGF UMR\_S 910, Université d'Aix-Marseille, Marseille, France
2. Laboratoire de Génomique Biomédicale et Oncogénétique, Institut Pasteur de Tunis, Tunis, Tunisie
3. Laboratoire d'endocrinologie Moléculaire, IURC, Université Montpellier I, Montpellier, France
4. Département des consultations externes, Institut National de Nutrition et des technologies, Tunis, Tunisie
5. Département d'endocrinologie et de maladies métaboliques, Institut National de Nutrition et des technologies, Tunis, Tunisie

**Mots clefs :** Ethnicité, polymorphismes, Syndrome Métabolique, Population Tunisienne.

### Résumé :

**Introduction:** Les récentes études d'associations en utilisant une approche gène candidats ou génome entier ont permis d'identifier de nombreux polymorphismes associés au syndrome métabolique (SMet). La réplification de ces résultats sur plusieurs populations issus de différents groupes ethniques montre qu'il existe une différence d'association entre populations. Le but de cette étude est d'estimer et de comparer la distribution alléliques des polymorphismes de gènes candidats du SMet entre la population tunisienne les différents groupes ethniques.

**Méthodes:** Des données de génotypage de puce Affymetrix de 134 individus Tunisiens sains ont été extrait pour 40 gènes candidats du SMet. L'équilibre de Hardy-Weinberg (HWE) et la fréquence des allèles à risque a été calculée dans un premier temps pour toutes les variations. Par la suite, la distribution de ces polymorphismes a été comparée avec des données de puce de différents groupes ethniques composés de sept populations Nord Africaines et neuf populations Européennes en utilisant une analyse en composantes principales.

**Résultats:** Un total de 1956 polymorphismes dans les 40 gènes du Smet ont été génotypés pour la population tunisienne. Parmi eux 214 polymorphismes n'était pas en HWE. Le pourcentage de variations avec une fréquence inférieur à 5% était de 11.75%. La comparaison de la distribution des allèles à risque entre les différentes populations a montré que la population tunisienne possède des fréquences alléliques proche des populations Nord Africaines par rapport aux populations Européennes. Cette différence explique en partie la variabilité génétique du syndrome métabolique selon l'origine ethnique.

**Conclusions:** Cette étude fournit le premier rapport de la distribution des fréquences alléliques de plusieurs polymorphismes des gènes impliqués dans le syndrome métabolique pour la population tunisienne. L'hétérogénéité génétique observée à travers les différentes populations pourrait expliquer d'une part les différences d'association entre les marqueurs étudiés et la maladie. Ces observations sont utiles pour améliorer notre vision des maladies complexes et à développer de nouvelles approches dans les études d'association génétique.

**GÉNÉTIQUE FORMELLE, GÉNÉTIQUE DES  
POPULATIONS ET MALADIES COMPLEXES**

**#3584 : A novel frame shift mutation in the XPC gene in a Moroccan patient with Xeroderma pigmentosum**

**Auteurs :**

Yassamine DOUBAJ (1), Wiam SMAILI (2), Fatima Zahra LAARABI (1), Abdelaziz SEFIANI (2)

1. Département de Génétique Médicale, Institut National d'Hygiène – Rabat, Rabat, Maroc
2. Centre de Génomique Humaine , Faculté de Médecine et de Pharmacie- Université Mohamed V- Souissi, Rabat, Maroc

**Mots clefs :** Novel - XPC- Xeroderma pigmentosum

**Résumé :**

Xeroderma pigmentosum (XP) is an autosomal recessive inherited disease, which is characterised by sun sensitivity and increased risk of cancer on sun-exposed surfaces. The prevalence of this genodermatosis is estimated to 1/1,000,000 in United States and it's more common in Japan and probably in other populations with high levels of consanguinity such as Morocco where the prevalence was estimated to be 1/80 504.

Xeroderma pigmentosum is a genetically heterogeneous disease, up to date; nine genes have been associated to this disorder. The molecular diagnosis and identification of mutation in patients require the knowledge of the causative gene by the determination of XP complementation groups using host-cell reactivation or other tests that are not routinely done.

We report the case of a consanguineous 21 years old man, presenting Xeroderma pigmentosum with bilateral ocular involvement. Peripheral blood was collected from the affected patient and his parents after an informed consent. Molecular genetic testing for Xeroderma pigmentosum was performed by amplifying exon 9 of XPC gene by PCR using specific primers and it leads to identify a new frameshift insertion of four nucleotides in exon 9 which has never been reported in patients with Xeroderma pigmentosum.

**Auteurs :**

**Jean-Louis SERRE<sup>1,2</sup>, Pierre DARLU<sup>3</sup>**

- 1- Université de Versailles - Saint Quentin en Yvelines - U1179 UVSQ-INSERM – Handicap Neuromusculaire : Physiologie, Biothérapie et Pharmacologie appliquées
- 2- SFGH – Société française de génétique humaine
- 3- UMR7206 Eco-anthropologie et ethnobiologie, MNHN,CNRS, Université Denis Diderot.

**Résumé :**

De nouvelles technologies de « genome editing » permettent de cibler avec précision le remplacement d'une séquence génomique par une autre. Parmi celles-ci, la technologie CRISPR-cas 9 se révèle être particulièrement efficace et peu coûteuse et fait l'objet d'un grand nombre de publications dans la mesure où elle ne pose pas seulement des problèmes sur les plans biologique, médical, éthique et sociétal mais qu'elle peut avoir aussi des conséquences en termes de génétique des populations et d'Evolution.

Cette technologie de genome editing est fondée sur l'utilisation d'une « cassette » contenant tout l'outillage de reconnaissance de la cible à corriger, la séquence correctrice de remplacement et les outils pour le faire.

Certes, des risques individuels existent, notamment par les conséquences d'insertions « off target » pouvant conduire à des modifications génomiques potentiellement pathologiques mais le risque principal vient de deux spécificités du système CRISPR-cas9 :

\* d'une part la modification n'est pas somatique mais germinale et donc transmissible \* d'autre part, cette modification conduit aussi à une conversion génique systématique de l'allèle « naturel » apporté par l'autre parent en un allèle modifié, notamment dans la lignée germinale.

Cela a pour conséquence que tout individu traité par la correction CRISPR-cas9 est conçu au départ comme hétérozygote mais est « converti » en homozygote dans sa lignée germinale (phénomène appelé gene drive en anglais).

Il est facile de montrer que l'introduction d'un gène particulier chez quelques individus d'une population, via une cassette CRISPR-cas9, conduirait inexorablement, du fait de cette conversion génique ou gene-drive à l'élimination des allèles « naturels » de ce gène chez tous les individus, et à leur remplacement par le gène modifié introduit au départ.

Les simulations numériques qui ont pu être faites sous diverses hypothèses montrent que ce remplacement prendrait entre 20 et 35 générations pour une population avec un million de naissances par génération. C'est très peu chez un insecte et cela représente 5 à 8 siècles chez l'homme.

Mais « last but not least », il demeurerait difficile de contrôler les mutations spontanées qui, avec le temps, pourraient toucher le système CRISPR-cas9 en lui conférant une nouvelle spécificité orientant alors la conversion génique vers d'autres cibles du génome, une sorte de modification « off-target naturelle » ne résultant pas d'un dysfonctionnement du système mais d'une mutation de celui-ci. Il faudrait alors craindre pour la population ou l'espèce une instabilité génomique chronique dont on ne peut anticiper les effets éventuels en termes de pathologie ou d'évolution.

C'est pourquoi il est important de comprendre que l'utilisation de la technologie CRISPR-cas9 comporte des risques non seulement d'une manière directe pour l'espèce humaine si elle applique cette technologie à son propre génome mais aussi indirectement si elle l'applique aux génomes d'espèces animales ou végétales qui sont impliquées dans l'écosystème dans lequel elle vit.

---

POSTERS

ONCOGÉNÉTIQUE

---

## ONCOGÉNÉTIQUE

### #2284 : Mécanismes de l'HTA au cours de la sclérose tubéreuse de Bourneville

#### Auteurs :

Nouha Abdelmoula Bouayed (1), Walid Smaoui (2), Oldez kaabi (1), Haythem Fourati (2), Kays Chaker (2), Rim Louati (1), Samir Aloulou (3), Ali Bahloul (2), Lobna Ayedi (4), Naourez Moalla Gouia (4), Mohamed Nabil Mhiri (2)

1. Service d'Histologie Génétique, , Faculté de Médecine de Sfax, Sfax, Tunisie
2. Service d'Urologie, CHU Hbib Bourguiba de Sfax, Sfax, Tunisie
3. Service de Carcinologie, Hôpital Régional , Gabes, Tunisie
4. Service de Cytologie et d'Anatomie Pathologique, CHU Hbib Bourguiba de Sfax, Sfax, Tunisie

**Mots clefs :** Sclérose Tubéreuse de Bourneville, HTA, STC1, mTOR

#### Résumé :

Nous rapportons l'association dans le cadre de la sclérose tubéreuse de Bourneville (STB) chez deux patients Tunisiens, de tumeurs rénales de type angiomyolipomes et adénocarciome à cellules rénales avec une hypertension artérielle d'installation précoce. Le diagnostic de la STB très probable cliniquement et à l'imagerie a été confirmé par biologie moléculaire uniquement chez l'un de nos deux patients. Le premier patient âgé de 36 ans présentait à l'IRM de multiples kystes rénaux bilatéraux avec 2 angiomyolipomes au niveau du rein droit. La tumorectomie de 5 foyers a permis de découvrir un adénocarcinome à cellules rénales bifocal au niveau médial, un kyste urinaire, 2 angiomyolipomes et une néphrite interstitielle chronique au voisinage des foyers cancéreux. L'étude génétique a montré la présence d'une mutation germinale familiale au niveau du gène TSC1 à type de délétion binucléotidique (213-214) de l'exon 5. La deuxième patiente âgée de 25 ans présentait de multiples angiomyolipomes au scanner. La néphrectomie gauche a permis de montrer à l'étude anatomo-pathologique et immuno-histochimique le profil d'un PEComa pour perivascular epithelioid cell tumors. Nos deux patients présentaient une HTA installée respectivement à 36 et 25 ans. L'hypertension artérielle est généralement reliée dans la STB aux lésions parenchymateuses rénales surtout en présence d'une polykystose rénale. Nous suggérons que l'association chez nos patients serait secondaire à une dysrégulation dans la voie de signalisation m-TOR. Nous développerons cette hypothèse à la lumière des données récentes de la littérature.

## ONCOGÉNÉTIQUE

### #2285 : Maladie de von Hippel–Lindau de type 2B chez une famille Tunisienne

#### Auteurs :

Walid Smaoui (1), Kays Chaker (1), Haythem Fourati (1), Samir Aloulou (2), Naourez Moalla Gouia (3), Lobna Ayedi (3), Rim Louati (4), Oldez kaabi (4), Ali Bahloul (1), Mohamed Nabil Mhiri (1), Nouha Abdelmoula Bouayed (4)

1. Service d'Urologie, CHU Hbib Bourguiba de Sfax, Sfax, Tunisie
2. Service de Carcinologie, Hôpital Régional , Gabes, Tunisie
3. Service de Cytologie et d'Anatomie Pathologique, CHU Hbib Bourguiba de Sfax, Sfax, Tunisie
4. Service d'Histologie Génétique, , Faculté de Médecine de Sfax, Sfax, Tunisie

**Mots clefs :** von Hippel–Lindau, VHL, conseil génétique

#### Résumé :

##### Objectifs

Nous rapportons l'observation clinique d'une patiente présentant une maladie de Von Hippel-Lindau (VHL) de type 2B à caractère familial avec un cancer du rein gauche associé à une tuberculose rénale droite. La patiente a présenté un syndrome cérébelleux évoluant depuis l'âge de 42 ans en relation avec des hémangioblastomes multiples cérébelleux et médullaire cervical et antécédents d'angiomes rétinien droits récidivants. Elle a ensuite été traitée pour un adénocarcinome à cellules claires multiple du rein gauche (tumorectomie) et pour une hypertension artérielle secondaire à phéochromocytome surrénalien droit ayant abouti à une surrénalectomie et une néphrectomie droite d'un rein mastic tuberculeux (une tuberculose du sein droit a été en même temps identifiée). A la suite d'une thrombose partielle de la veine rénale gauche, la réévaluation de la maladie VHL a montré la présence de kystes multiples du pancréas, un kyste de l'ovaire et une récurrence bifocale du carcinome rénal gauche. La patiente est mise sous traitement ciblé (Sentent) afin de retarder l'hémodialyse. Elle est à son 3ème cycle. L'étude familiale a montré qu'il s'agissait d'une famille de 11 fratrie avec 6 sujets atteints ont 4 sont décédés à un âge précoce pour 3 (20 ans) et à 47 ans pour le dernier. La symptomatologie était essentiellement neurologique avec des hémangioblastomes. Les deux patients vivants, notre patiente et son frère (48 ans) sont les seuls à présenter une atteinte néoplasique rénale probablement comme évolution naturelle de la maladie avec l'âge. L'étude génétique moléculaire à la recherche de la mutation familiale à l'échelle constitutionnelle permettrait un conseil génétique pour tous les membres de la famille afin de bien prendre en charge les éventuelles tumeurs mais aussi d'assister psychologiquement cette famille (à noter que notre patiente a été victime d'une tentative de suicide).

## ONCOGÉNÉTIQUE

### #2286 : Signature génétique des angiomyolipomes et des PEComas

#### Auteurs :

Walid Smaoui (1), Haythem Fourati (1), Kays Chaker (1), Samir Aloulou (2), Lobna Ayedi (3), Naourez Moalla Gouia (3), Oldez kaabi (4), Rim Louati (4), Ali Bahloul (1), Mohamed Nabil Mhiri (1), Nouha Abdelmoula Bouayed (4)

1. Service d'Urologie, CHU Hbib Bourguiba de Sfax, Sfax, Tunisie
2. Service de Carcinologie, Hôpital Régional , Gabes, Tunisie
3. Service de Cytologie et d'Anatomie Pathologique, CHU Hbib Bourguiba de Sfax, Sfax, Tunisie
4. Service d'Histologie Génétique, , Faculté de Médecine de Sfax, Sfax, Tunisie

**Mots clefs :** LOH, TSC1, TSC2, angiomyolipomes, PEComas, mTOR

#### Résumé :

Nous présentons une mise au point à propos des données génomiques récentes concernant la signature génétique des PEComas en général et des angiomyolipomes en particulier.

Les gènes suppresseurs de tumeur TSC1 codant pour l'hamartine et TSC2 codant pour la Tubérine ont été identifiés au décours de l'étude de la sclérose tubéreuse de Bourneville avec mise en évidence de plusieurs mutations délétères à l'échelle constitutionnelle. Les études génomiques somatiques ont permis de démontrer les pertes de l'hétérozygotie (LOH) aussi bien de TSC1 que TSC2 au niveau des tumeurs caractérisant la STB. Ces LOH ont été ensuite mis en évidence dans plusieurs tumeurs sporadiques telles que les carcinomes de la vessie, les lymphangioliomyomatoses et les angiomyolipomes.

Considérés longtemps comme bénins, les angiomyolipomes ont été démontrés à caractère clonal et malin avec des LOH surtout en TSC2. Ils sont actuellement classés parmi la famille des tumeurs mésenchymateuses PEComas pour perivascular epithelioid cell tumors. Bien que le mécanisme moléculaire impliqué dans la pathogenèse des PEComas n'est pas totalement élucidé, il semble que l'inactivation des gènes TSC avec activation conséquente de la voie de signalisation m-TOR soit l'un des mécanismes les plus fondés. Ces données ont été consolidées par la réponse des angiomyolipomes aux inhibiteurs de m-TOR 1 et ce indépendamment au spectre mutationnel des TSC.

A la lumière de ces données, les prises en charge diagnostique et thérapeutique; médicale et chirurgicale ont évolué mais plusieurs controverses persistent et devraient être discutées.

## ONCOGÉNÉTIQUE

### #2302 : Identification de mutation germinale à partir des tumeurs: exemple d'un cas décédé avec un phénotype évoquant le syndrome de Lynch

#### Auteurs :

Caroline KIENTZ (1), Qing WANG (2), Alix CLEMENSON (3), Marie-Odile JOLY (4), Marie-Laure STACHOWICZ (3), Marine LEBRUN (1), Valéry ATTIGNON (5), Jessie AUCLAIR (5), Fabienne PRIEUR (1), Renaud TOURAINE (1)

1. GENETIQUE, CHU NORD SAINT ETIENNE, SAINT ETIENNE, France
2. Laboratoire de Génétique Constitutionnelle des cancers fréquents HCL/CLB, Centre Léon Bérard, Lyon, France
3. Service d'anatomopathologie et de Cytologie Pathologiques, CHU NORD SAINT ETIENNE, SAINT ETIENNE, France
4. Service central d'anatomie et de cytologie pathologiques, Hôpital Edouard Herriot, Lyon, France
5. plateforme de génomique des cancers Département de la recherche translationnelle et d'innovation, Centre Léon Bérard, Lyon, France

**Mots clefs :** Lynch, MMR, Méthylation promoteur MLH1, MLH1, MSI, BRAF, Analyse somatique

#### Résumé :

Il a été découvert, chez un jeune homme de 37 ans, deux tumeurs synchrones digestives. La première était une tumeur de l'angle iléocaecal, siégeant à la base de l'appendice et occupant le quart de sa circonférence, correspondant à un adénocarcinome mucineux avec cellules en « bagues à chaton ». La seconde était une tumeur rectosigmoïdienne peu différenciée, infiltrante, avec contingent médullaire majoritaire. Le patient avait des antécédents familiaux de cancer colique au premier degré à 43 ans et au second degré également.

Des analyses complémentaires en immunohistochimie et recherche d'instabilité des microsatellites ont été réalisées. Les deux tumeurs étaient MSI-High, avec perte d'expression des protéines MLH1 et PMS2. Toutefois, la tumeur iléocaecale présentait également une hyperméthylation du promoteur MLH1 avec présence de la mutation BRAF V600E.

Le patient avait été informé de la probabilité qu'il soit porteur d'un syndrome de Lynch mais sa carcinose péritonéale a évolué très rapidement et il est décédé avant de pouvoir être vu en consultation d'oncogénétique.

Devant la demande de conseil génétique de ses apparentés au premier degré et ayants droits, de l'accord initial de ce patient pour effectuer une recherche génétique, en tenant compte des profils tumoraux et après discussion en réunion de concertation pluridisciplinaire, il a été décidé d'effectuer une analyse somatique des gènes MLH1, MSH2, MSH6 et PMS2 sur les deux tumeurs de ce patient.

Plusieurs variants ont été identifiés mais un seul, du gène MLH1, a été retrouvé dans les deux tumeurs, dans le tissu sain adjacent, et dans un prélèvement indépendant correspondant aux biopsies faites lors de la découverte des tumeurs.

Ce variant est fortement suspect d'être délétère puisqu'il touche la dernière base d'un exon impliqué dans le processus d'épissage.

L'histoire et les résultats de ce patient sont très importants. Nous souhaitons mettre en avant l'utilité de l'analyse génétique à partir du tissu tumoral dans certaines situations, à condition d'avoir également du tissu sain, en cas de forte suspicion de prédisposition génétique, lorsque le cas index informatif est décédé. Il est important de noter également que l'hyperméthylation du promoteur MLH1 peut être le deuxième évènement somatique de la tumeur. Elle peut ainsi masquer la perte d'expression de la protéine MLH1 liée à une mutation constitutionnelle du gène. Il faut donc être vigilant lorsque l'on est en présence d'une tumeur avec hyperméthylation du promoteur MLH1 chez un patient jeune ou avec une histoire familiale de cancers du spectre du syndrome de Lynch.

## ONCOGÉNÉTIQUE

### #2317 : Prédilection héréditaire aux cancers du sein et/ou des ovaires chez la femme mutées BRCA asymptomatique: une étude européenne

#### Auteurs :

Christophe CORDIER (1), Nicolas TARIS (2), Fanchon GILLMANN (1), Jean-Marc LIMACHER (3), Carole MATHELIN (4), Christine MAUGARD (1)

1. UF 6948 - Oncogénétique, Hôpitaux de Strasbourg, Strasbourg, France
2. Oncogénétique, Centre Paul Strauss, Strasbourg, France
3. Oncogénétique, Hôpital de Colmar, Colmar, France
4. Sénologie, Hôpitaux de Strasbourg, Strasbourg, France

**Mots clefs** : oncogénétique, BRCA, recommandations, prévention, chirurgie prophylactique

#### Résumé :

**Introduction:** Les femmes porteuses d'une mutation *BRCA* sont à haut-risque de développer un cancer du sein et/ou des ovaires. L'Institut National du Cancer (INCa) a publié, dès 2009, des recommandations pour la détection précoce et la prévention des cancer du sein et/ou des ovaires incluant une surveillance régulière voire une chirurgie prophylactique. Le but de notre étude est de comparer les recommandations proposées par l'INCa à celles existant dans les pays européens. **Méthodes:** Un questionnaire en ligne a été réalisé et adressé aux membres de l'ENGNC (European Network of Genetic Nurses and Counsellors). Ce questionnaire comprend des questions relatives à la prévention du cancer du sein et/ou des ovaires pour les femmes porteuses d'une mutation sur un des gènes *BRCA* et étant indemne d'antécédents carcinologiques. **Résultats:** Vingt-sept professionnels de santé issus de 16 pays européens ont accepté de prendre part à cette étude. Vingt-et-un (78%) ont déclaré que des recommandations sont d'ores et déjà en place dans leur pays pour la surveillance sénologique, et 14 (52%) concernant la surveillance gynécologique. Les recommandations de surveillance comprennent la réalisation d'une mammographie (100%, n=27/27), d'une IRM (96%, n=26/27), d'une échographie endovaginale (41%, n=11/27), et du dosage du serum CA 125 (23%, n=5/27). En ce qui concerne la chirurgie prophylactique, 52% (n=13/25) proposent une mastectomie bilatérale, et 81 % (n=21/26) une ovariectomie bilatérale associée à une annexectomie bilatérale. **Discussion:** Les recommandations pour les prédispositions héréditaires aux cancers du sein et/ou des ovaires diffèrent à travers les pays européens. Certains pays recommandent essentiellement une chirurgie prophylactique alors que d'autres optent pour une surveillance précoce et régulière. Les âges de début et de fin de surveillance, voire de chirurgie prophylactique, diffèrent également d'un pays à l'autre, et semblent être dépendant de l'histoire familiale retenue. Nous proposons de définir des recommandations européennes pour les prédispositions héréditaires aux cancers du sein et/ou des ovaires pour les patientes asymptomatiques porteuses d'une mutation *BRCA*.

## ONCOGÉNÉTIQUE

### #2319 : Initial assessment of CALR gene mutational profile in Moroccan Essential Thrombocythemia and first report of germline in frame deletion

#### Auteurs :

Wiam SMAILI (1), Yassamine DOUBAJ (2), Fatima Zahra LAARABI (2), Jaber LYAHYAI (1), Mohamed MIKDAME (3), Abdelaziz SEFIANI (1)

1. Centre de Génomique Humaine , Faculté de Médecine et de Pharmacie- Université Mohamed V- Souissi, Rabat, Maroc

2. Département de Génétique Médicale, Institut National d'Hygiène – Rabat, Rabat, Maroc

3. Service d'hématologie clinique, Hôpital Militaire d'Instruction Mohammed V- Université Mohamed V , Rabat, Maroc

**Mots clefs :** Essential thrombocythemia, CALR, in frame deletion, Moroccan

#### Résumé :

**Background:** The discovery of somatic mutations within the gene encoding calreticulin (*CALR*) in 2013 represented a major milestone in the molecular diagnosis of *BCR-ABL* negative myeloproliferative neoplasms. In fact, exome sequencing revealed that most patients with essential thrombocythemia lacking *JAK2* or *MPL* mutations, harbor somatic insertion and/or deletion in the exon 9 of *CALR* gene. In this study we identified the first *CALR* genemutational landscape in Moroccan patients with essential thrombocythemia in order to integrate this molecular test systematically in the algorithm of the diagnostic criteria.

**Patients and methods:** We performed Sanger sequencing of exon 9 of *CALR* gene in blood samples obtained from 8 Moroccan patients with essential thrombocythemia and non-mutated *JAK2*.

**Results:** we detected five distinct variants out of eight patients; three novel indel mutations, one type 2 recurrent mutation and an in frame deletion which was found to be a germline variant that should be further explored.

**Conclusion:** These first results were very encouraging in promoting the molecular diagnosis of essential thrombocythemia in Morocco. Moreover the germline in frame deletion in a symptomatic patient should put the item on greater vigilance on the interpretation and understanding of the variations of the gene.

## ONCOGÉNÉTIQUE

**#2329 : Développement d'une suite logicielle validée en diagnostic pour l'analyse des données de NGS en génétique constitutionnelle et somatique**

### Auteurs :

Laurent Castéra (1), Baptiste Brault (1), Raphaël Lanos (2), Germain Paimparay (1), Sophie Coutant (2), Antoine Rousselin (1), Myriam Vezain (2), Laurent Mouchard (3), André Blavier (4), Thierry Lecroq (3), Dominique Vaur (1), Thierry Frébourg (2)

1. Laboratoire de Biologie et de Génétique du Cancer, INSERM U1079, Centre Normand de Génomique Médicale et Médecine Personnalisée, CLCC Centre François Baclesse, Caen, France
2. Unité de Génétique moléculaire, INSERM U1079, Centre Normand de Génomique Médicale et Médecine Personnalisée, CHU, Rouen, France
3. Laboratoire d'Informatique du Traitement de l'Information et des Systèmes, Université, Rouen, France
4. , Interactive Biosoftware, Rouen, France

**Mots clefs :** Pipeline, Bioinformatique, Diagnostic

### Résumé :

L'équipe de Bioinformatique du « Centre Normand de Génomique et de Médecine Personnalisée » est composée de biologistes et de bioinformaticiens du CHU de Rouen, du CRLCC de Caen, du LITIS de Rouen et de la société Interactive Biosoftware. Dans le cadre du projet INCa « Structuration du séquençage de nouvelle génération à visée diagnostique en cancérologie », nous avons développé une suite logicielle permettant l'analyse des données de séquençage à haut débit. Cette suite logicielle permet l'analyse automatisée des données issues de séquenceurs Illumina pour des applications en re-séquençage ciblé (de type capture) tant en génétique constitutionnelle que somatique. Les pipelines sont intégrés dans un logiciel (*BAPT : Bioinformatic Analysis Pipeline and Toolkit*) développé en langage de programmation JAVA et qui fait le lien entre les programmes bioinformatiques et l'utilisateur. BAPT permet de standardiser et d'automatiser les analyses, avec un paramétrage bloqué des pipelines validés, et d'en faciliter le lancement. BAPT permet le pilotage de serveurs distants sur lesquels les outils nécessaires sont installés. BAPT contient trois pipelines pour la génétique constitutionnelle et un pour la génétique somatique. Ces pipelines, validés sont utilisés en routine pour le diagnostic moléculaire des prédispositions au cancer du sein, de l'ovaire et du colon ainsi que pour le génotypage des tumeurs coliques et ovariennes dans le contexte des thérapies ciblées. Les résultats sont générés sous forme de fichiers de variants annotés, de CNVs et de données de qualité. Des fichiers .bam et .vcf sont également générés. BAPT peut intégrer les données générées dans une base de données PostgreSQL développée dans le cadre de ce projet (*CanDiD : Cancer Diagnostic Database*) et basée sur un système évolutif en clé / valeurs. CanDiD intègre les résultats des différents « *variants callers* » annotés et interprétés ainsi que ceux des techniques conventionnelles (Sanger). Une interface graphique « utilisateur » dédiée à CanDiD a été développée avec les outils de développement ExtJS. Cette interface comporte des fonctionnalités de fouille de données et des outils de validations et communique avec CanDiD par l'intermédiaire d'une API développée en langage Python (framework DJANGO). Celle-ci comporte des fonctions d'authentification, de gestion des droits et d'écriture de fonctions complexes. Grâce à l'architecture 3 tiers CanDiD/API/Interface, il sera possible que d'autres outils indépendants de nos développements puissent interroger les données de la base s'ils utilisent les fonctions de l'API (et son système d'authentification). Dans le cadre du projet de l'INCa, ces logiciels seront disponibles à la demande sous forme de machines virtuelles déployables localement ou en « *cloud computing* ». Cette dernière option est actuellement testée sur le Cloud de l'Institut Français de Bioinformatique et sera accompagnée de tutoriels disponibles « en ligne ».

## ONCOGÉNÉTIQUE

**#2340 : Etude observationnelle rétrospective mono centrique évaluant le degré d'adhésion aux recommandations de L'INCa 2009 concernant le suivi des patientes mutées BRCA1/BRCA2**

### Auteurs :

Laura SATGER (1), Philippe ROUANET (2), Simon THEZENAS (3), Pascal PUJOL (4), William JACOT (5), Isabelle COUPIER (6)

1. Oncogénétique, ICM Val d'Aurelle , MONTPELLIER, France
2. Onco chirurgie A1, ICM Val d'Aurelle , MONTPELLIER, France
3. Unité de biométrie, ICM Val d'Aurelle , MONTPELLIER, France
4. Génétique Médicale et Chromosomique, Oncogénétique, CHU Arnaud de Villeneuve, MONTPELLIER, France
5. Oncologie Médicale, ICM Val d'Aurelle , MONTPELLIER, France
6. Oncogénétique, CHU Arnaud de Villeneuve, MONTPELLIER, France

**Mots clefs** : oncogénétique, cancer sein, cancer ovaire, mutation constitutionnelle, gènes BRCA1/BRCA2, suivi

### Résumé :

#### INTRODUCTION

5 à 10% des cancers du sein et/ou de l'ovaire sont d'origine héréditaire, majoritairement liés à une mutation constitutionnelle des gènes *BRCA1/BRCA2*, exposant à un important sur-risque.

Nous avons réalisé une étude observationnelle rétrospective chez 114 patientes porteuses d'une mutation délétère *BRCA1/BRCA2* prises en charge au sein de notre institution entre 2006 et 2012. Le but de l'étude était d'évaluer les pratiques de suivi et l'adhérence des praticiens, aux recommandations de l'INCa sur la prise en charge des patientes porteuses d'une mutation BRCA1/2. Le recueil s'est déroulé entre Janvier et Mars 2015.

#### RESULTATS

Sur 114 patientes, 78 avaient un ATCD personnel de cancer, (69 cancers du sein et 9 cancers de l'ovaire). 68 étaient porteuses d'une mutation délétère du gène *BRCA1* et 46 du gène *BRCA2*.

Au moment du recueil de données,

7 (23,3%) patientes indemnes avaient bénéficié d'une mastectomie prophylactique bilatérale. Parmi les 24 patientes ayant eu un cancer du sein, 16 (66,6%) avaient eu une mastectomie prophylactique controlatérale et 8 (33,3%) patientes, qui avaient eu une chirurgie conservatrice unilatérale, ont eu dans un second temps une mastectomie prophylactique bilatérale. Au total, 31 (31,6%) patientes avaient bénéficié d'une mastectomie prophylactique. 63 patientes avaient bénéficié d'une chirurgie pelvienne prophylactique, il s'agissait d'une annexectomie pour 61 (93,8%) patientes.

Concernant le suivi, 33 patientes n'effectuaient aucune autopalpation mammaire, les autres rapportaient une autopalpation irrégulière. 46 bénéficiaient d'une surveillance médicale clinique semestrielle, seules 6 patientes n'ont aucune surveillance clinique. 46 patientes bénéficiaient d'une IRM mammaire et d'une échographie mammographie. Dans 93,4% des cas la surveillance était annuelle ; alternée semestriellement dans 60,9% des cas contre 39,1% d'exams combinés. 14,8% des patientes réalisaient une échographie pelvienne et parmi elles, 53,8% étaient réalisées annuellement.

#### CONCLUSION

Le suivi des patientes porteuses de la mutation constitutionnelle *BRCA1/BRCA2* est le plus souvent conforme aux recommandations de l'INCa.

Seule la surveillance pelvienne est peu réalisée.

## ONCOGÉNÉTIQUE

### #2363 : Polymorphismes pour la personnalisation de dépistage de cancer du sein

#### Auteurs :

David Cox (1), Quentin MANDIER (2), Elise TABET (3), Pierre HEUDEL (4), Julie HENRY (2)

1. INSERM U1052, Centre de Recherche en Cancérologie de Lyon, Lyon, France

2. LyRIC, Centre Léon Bérard, Lyon, France

3. Direction Générale, Centre Léon Bérard, Lyon, France

4. Oncologie Médicale, Centre Léon Bérard, Lyon, France

**Mots clefs** : polymorphisme, cancer, sein, population, dépistage

#### Résumé :

La prédisposition est définie comme « la disposition, tendance, aptitude naturelle à quelque chose ». Le concept de « prédisposition génétique » implique simplement que nos gènes augmentent la probabilité de développer certains traits au cours de notre vie. Depuis les premières études pan génomiques dans les années 2000, 2 293 études identifiant 16 831 associations entre des variants et des caractéristiques humaines ont été publiées. Ces études montrent que nos gènes nous prédisposent à des caractéristiques comme la taille ou le poids, mais également l'aptitude à faire de la musique, ou bien le développement de maladies comme le cancer du sein par exemple. Aujourd'hui, 94 variants fréquents (fréquence d'allèle mineur > 5%) sont associés avec le risque de développer un cancer du sein chez des femmes sans antécédents familiaux. Individuellement, ces variants sont statistiquement associés avec le risque de développer un cancer du sein ( $p < 1.0 \times 10^{-8}$ ), mais plus de la moitié modifient peu le risque relatif au cancer du sein (risque relatif < 1.1). Cependant, un score de risque peut être élaboré à partir du nombre d'allèles à risque présents chez un sujet, et éventuellement utilisé pour améliorer et personnaliser des programmes de prévention et de dépistage. Dans cette présentation, nous explorons comment des variants génétiques fréquents (fréquence d'allèle mineur ~5% ou plus) liés au risque de cancer du sein ont été identifiés, et ouvrent la discussion sur l'utilisation de ces variants dans la clinique pour améliorer la prévention et rendre possible un dépistage du cancer du sein plus personnalisé.

## ONCOGÉNÉTIQUE

### #2389 : Séquençage à haut débit ciblé des gènes *BRCA1* et *BRCA2* dans les tumeurs de l'ovaire

#### Auteurs :

Nicolas Goardon (1), Aude Lamy (2), Lespagnol Alexandra (3), Etienne Muller (1), Julien Pontoizeau (4), Aurore Tranchant (1), Robin Fouillet (1), Florian Domin (1), Baptiste Brault (1), Antoine Rousselin (1), Caroline Abadie (5), Julie Tinat (6), Pascaline Berthet (7), Cécile Blanc-Fournier (4), Jean Mosser (3), Jean-Christophe Sabourin (2), Christian Bastard (8), Thierry Frébourg (6), Agathe Ricou (1), Sophie Krieger (9), Laurent Castéra (1), Dominique Vaur (1)

1. Laboratoire de Biologie et de Génétique du Cancer, INSERM U1079, Centre Normand de Génomique Médicale et Médecine Personnalisée, CLCC Centre François Baclesse, Caen, France
2. Laboratoire de génétique du cancer, département de Pathologie, CHU, Rouen, France
3. Service de Génétique Moléculaire et Génomique des Cancers, CHU Pontchaillou, Rennes, France
4. Service de Pathologie, CLCC Centre François Baclesse, Caen, France
5. Département de Génétique, CLCC Eugène Marquis, Rennes, France
6. Unité de Génétique moléculaire, INSERM U1079, Centre Normand de Génomique Médicale et Médecine Personnalisée, CHU, Rouen, France
7. Service d'oncogénétique, CLCC Centre François Baclesse, Caen, France
8. Département d'Hématologie, CLCC Henri Becquerel, Rouen, France
9. Laboratoire de Biologie et de Génétique du Cancer, INSERM U1079, Centre Normand de Génomique Médicale et Médecine Personnalisée, CLCC Centre François Baclesse, Université de Caen Normandie, Caen, France

**Mots clefs :** BRCA, Inhibiteur de PARP, NGS, tumeur

#### Résumé :

Le cancer de l'ovaire avec 4400 nouveaux cas par an en France se place à la 5<sup>ème</sup> place des causes de décès par cancer chez la femme. Dans environ 30% des cas, le développement du cancer de l'ovaire est associé chez les patientes à la présence d'une mutation dans la tumeur des gènes *BRCA* soit d'origine constitutionnelle (20%) soit purement somatique (10%). Récemment, un mécanisme de létalité synthétique liée à l'inhibition des enzymes PARP a été décrit pour les tumeurs présentant une déficience des gènes *BRCA*. Dès lors, l'arrivée dans l'arsenal thérapeutique des inhibiteurs de PARP s'adressant à des patientes atteintes d'un cancer de l'ovaire avancé et porteuses d'une mutation *BRCA*, a imposé de rechercher les mutations de ces gènes dans les tumeurs ovariennes incluses en paraffine dans un délai compatible avec la prise en charge thérapeutique. Afin de répondre à cet enjeu thérapeutique, dans la cadre de l'essai clinique PAOLA-1 et de l'AMM, nous avons validé pour le diagnostic une stratégie de Séquençage de Nouvelle Génération basée sur la capture des gènes *BRCA1* et *BRCA2* dans les tumeurs de l'ovaire. Les analyses bioinformatiques sont automatisées, prises en charge par le logiciel BAPT et basées sur l'utilisation des logiciels NextGene, BWA-GATK, LOFREQ et Alamut-batch. Afin de valider notre méthode, nous avons analysé 73 tumeurs de l'ovaire issues de patientes ayant préalablement bénéficiées d'une recherche de mutation constitutionnelle sur les gènes *BRCA*. Sur ces 73 patientes, 38 présentaient un ou plusieurs variants constitutionnels dans les gènes *BRCA* (37 mutations délétères dont 31 SNV, 5 indels dont la mutation c.4282ins39 dans *BRCA1*, 1 RGT et 4 VSI) et 35 étaient négatives pour cette recherche. Après analyse, nous avons pu observer une couverture de séquençage de 100% des régions codantes de *BRCA1* et *BRCA2* associée à une profondeur de séquençage supérieure à 300X. En combinant les trois logiciels d'analyse, notre méthode présente une sensibilité de 100% avec une excellente spécificité. En effet, tous les variants constitutionnels ont été détectés ainsi que quatre variants purement somatiques (3 SNV délétères et 1 VSI). Nous avons ainsi validé une méthode d'analyse des gènes *BRCA* dans les tumeurs de l'ovaire dont l'implémentation en routine permet un rendu de résultat avec un délai moyen de 15 jours. L'identification d'une mutation des gènes *BRCA* dans la tumeur devra néanmoins s'inscrire dans une prise en charge globale en oncogénétique aboutissant à la recherche de la mutation au niveau constitutionnel afin de mettre en place les prises en charge personnalisées individuelles et familiales. Cette stratégie séquentielle (1) analyse des gènes *BRCA* sur la tumeur; (2) consultation d'oncogénétique et (3) recherche de la mutation au niveau constitutionnel aurait comme intérêt de réduire de 70% les consultations d'oncogénétique justifiées par les cancers de l'ovaire et de répondre à la fois aux exigences du temps thérapeutique et du conseil.

## ONCOGÉNÉTIQUE

### #2439 : Mise en évidence des altérations de l'épissage par RNAseq ciblé de gènes de prédisposition au cancer du sein et de l'ovaire

#### Auteurs :

Grégoire Davy (1), Antoine Rousselin (1), Nicolas Goardon (1), Frédéric Lemoine (2), Laurent Castéra (1), Angéline Legros (1), Etienne Muller (1), Robin Fouillet (1), Baptiste Brault (1), Marine Guillaud-Bataille (3), Françoise Bonnet (4), Claude Houdayer (5), Virginie Moncoutier (5), Pascaline Gaildrat (6), Pierre de la Grange (2), Thierry Frébroug (6), Alexandra Martins (6), Dominique Vaur (1), Sophie Krieger (7)

1. Laboratoire de Biologie et de Génétique du Cancer, INSERM U1079, Centre Normand de Génomique Médicale et Médecine Personnalisée, CLCC Centre François Baclesse, Caen, France
2. GenoSplice, Hôpital Pitié Salpêtrière, Paris, France
3. Département de Génétique, CLCC Gustave Roussy, Villejuif, France
4. Laboratoire de génétique moléculaire, CLCC Institut Bergonié, Bordeaux, France
5. Service de Génétique, Institut Curie, Paris, France
6. Unité de Génétique moléculaire, INSERM U1079, Centre Normand de Génomique Médicale et Médecine Personnalisée, CHU, Rouen, France
7. Laboratoire de Biologie et de Génétique du Cancer, INSERM U1079, Centre Normand de Génomique Médicale et Médecine Personnalisée, CLCC Centre François Baclesse, Université de Caen Normandie, Caen, France

**Mots clefs :** RNAseq, cancer sein/ovaire, épissage, NGS

#### Résumé :

Le séquençage ciblé à haut débit de l'ARNm (RNASeq) permet d'analyser des variations d'expression de gènes et d'identifier des transcrits anormaux de manière extensive. Nous avons analysé, par RNASeq, après capture des exons, 11 gènes impliqués dans la prédisposition aux cancers du sein et de l'ovaire (*BARD1*, *BRIP1*, *BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK2*, *PALB2*, *RAD51B*, *RAD51C*, *RAD51D*, *XRCC2*, *XRCC3*). Trente-sept échantillons d'ARNm, extrait de sang total collecté sur tubes Paxgene, de leucocytes stimulés ou de lignées lymphoblastoïdes cultivées avec ou sans puromycine ont été séquencés. Vingt-six étaient connus pour présenter des mutations exoniques ou introniques dans les gènes *BRCA1*, *BRCA2* et *RAD51C* ayant un effet partiel ou total sur l'épissage caractérisé au préalable par RT-PCR et 2 patientes étaient porteuses d'un réarrangement de grande taille. Neuf ARN provenaient de témoins indemnes de cancer. Les bibliothèques d'ADNc ont été séquencées sur plateformes Illumina MiSeq et NextSeq500 en *paired-ends* 2x100 pb. Après un alignement des reads par STAR, l'analyse qualitative et quantitative des jonctions a été réalisée, après normalisation, par Bedtools et des scripts que nous avons développés. La quantification des transcrits a été réalisée à partir des données obtenues par HTseq-count et Bedtools et celle des exons par DEXSeq après normalisation. Pour les lignées et les leucocytes stimulés, la profondeur de lecture varie de 700 X à 600 000 X selon l'expression des gènes. Nous avons notamment détecté et quantifié l'ensemble des épissages alternatifs décrits pour *BRCA1* et *BRCA2*, et identifié de nouveaux transcrits parfois très faiblement représentés et résultant, par exemple, d'exonisation de régions introniques profondes pour *BRCA2*. Dans les prélèvements avec altérations d'épissage connues, toutes les jonctions anormales attendues ont été détectées avec ou sans traitement par la puromycine, mais nous avons observé un profil plus complexe d'épissage anormal. Par la suite, nous utiliserons cette méthodologie pour étudier les transcrits de 20 patientes présentant des probabilités élevées de prédisposition pour lesquelles aucune mutation délétère n'a été identifiée dans les gènes *BRCA1* et *BRCA2*, afin de rechercher des anomalies de l'épissage de ces gènes.

## ONCOGÉNÉTIQUE

### #2448 : Mise en place d'une procédure conduisant à l'évaluation du risque de violation de l'empreinte génomique maternelle du gène SDHD

#### Auteurs :

Jean-Michaël MAZZELLA (1), Nelly BURNICHON (1), Delphine DRUI (2), Nirubiah THURAIRAJASINGAM (1), Arnaud MURAT (2), Khadija LAHLOU-LAFORET (3), Anne-Paule GIMENEZ-ROQUEPLO (1)

1. Service de Génétique, Hôpital Européen Georges Pompidou, PARIS, France
2. Service d'Endocrinologie, Centre Hospitalier Universitaire de Nantes, NANTES, France
3. Unité de Psychologie et Psychiatrie de Liaison et d'Urgence, Hôpital Européen Georges Pompidou, PARIS, France

**Mots clefs :** SDHD – Paragangliome – Phéochromocytome – Empreinte génomique – Conseil génétique

#### Résumé :

##### Introduction :

Le gène *SDHD* est un gène suppresseur de tumeur prédisposant aux phéochromocytomes (PHEO) et paragangliomes (PGL) situé sur le bras long du chromosome 11. Sa transmission est de type autosomique dominante, soumise à empreinte génomique maternelle. Cependant, en 2011 le cas d'un patient atteint de PHEO ayant hérité de sa mère d'une mutation du gène *SDHD* a été rapporté dans la littérature. Suite à cela, la consultation multidisciplinaire d'oncogénétique de l'Hôpital Européen Georges Pompidou (HEGP) a eu la volonté d'évaluer le risque de survenue de cette violation de l'empreinte ainsi que les conséquences pour le conseil génétique dans ces familles.

##### Méthode :

Ainsi, les dossiers de la période 2001-2015, des patientes porteuses d'une variation du gène *SDHD* ayant des enfants adultes à tester, et des apparentés adultes porteurs d'une variation du gène *SDHD* héritée de la branche maternelle, ont été revus. Durant l'année 2012, des courriers d'information établis après réflexion multidisciplinaire ont été envoyés aux patients et aux prescripteurs concernés par ce cas de figure, puis un bilan (dosage des métanéphrines, angio-IRM de la tête et du cou, TDM thoraco-abdomino-pelvien, examens de médecine nucléaire) a été proposé aux patients à risque.

##### Résultats :

36 patients ont été recensés. Des courriers informant de ce risque ont été envoyés (12 patients suivis par l'équipe) et 17 médecins prescripteurs. Une évaluation psychologique des conséquences du courrier d'information a montré que celui-ci a été perçu comme neutre (50%) ou rassurant (50%), et a permis la reprise du suivi pour le patient (75%) ou pour un apparenté (25%). Un recueil des données biologiques et d'imagerie permettant la recherche de PHEO/PGL a été réalisé chez 15 patients. Parmi eux, un PHEO a été découvert puis prouvé histologiquement chez une patiente de 34 ans asymptomatique, porteuse d'une mutation du gène *SDHD* hérité de sa mère. L'exploration moléculaire de la tumeur de cette patiente a permis de montrer la survenue d'une recombinaison génique conduisant à la perte du bras long du chromosome 11 paternel contenant le gène *SDHD* normal associée à la perte du bras court du chromosome 11 maternel, comme cela a été rapporté dans les deux cas publiés à ce jour.

##### Conclusion :

Cette étude démontre que le risque de violation de l'empreinte génomique maternelle du gène *SDHD* demeure un cas de figure rare mais bel et bien existant. De ce fait, la procédure de dépistage des familles *SDHD* a été revue, en les recontactant grâce à un courrier sans connotation inquiétante, pour leur annoncer une donnée nouvelle. Cette procédure a bien été acceptée, nous proposons donc désormais un dépistage génétique familial systématique des enfants de patientes porteuses d'une variation *SDHD* à partir de l'âge de 18 ans. Lorsque ce dépistage s'avère positif, des explorations sont alors recommandées afin de détecter la présence éventuelle de tumeurs.

## ONCOGÉNÉTIQUE

### #2491 : Analyse multi-omics d'une large cohorte de phéochromocytomes et paragangliomes

#### Auteurs :

Nelly Burnichon (1), Luis Jaime Castro-Vega (2), Eric Letouzé (3), Alexandre Buffet (2), Laurence Amar (4), Jérôme Bertherat (5), Aurélien De Reynies (3), Judith Favier (2), Anne-Paule Gimenez-Roqueplo (6)

1. Département de Génétique, Hôpital européen Georges Pompidou, Paris, France
2. U970 PARCC HEGP, INSERM, Paris, France
3. Programme Cartes d'Identité des Tumeurs, Ligue Nationale Contre Le Cancer, Paris, France
4. Service d'Hypertension, Hôpital européen Georges Pompidou, Paris, France
5. Service d'Endocrinologie, Hôpital Cochin, Paris, France
6. Département de Génétique, Hôpital européen Georges Pompidou, Paris, France

**Mots clefs :** Cancer, Paragangliome, Phéochromocytome, Génomique, Whole exome sequencing, transcriptome, miRnome, méthylome, SNP array

#### Résumé :

Les phéochromocytomes (PCC) et les paragangliomes (PGL) sont des tumeurs rares qui se développent aux dépens de la glande médullosurrénale ou du tissu paraganglionnaire extra-surrénalien. Ces tumeurs sont caractérisées par une importante hétérogénéité génétique. A ce jour, au moins 12 gènes de susceptibilité sont connus, comprenant deux oncogènes (*RET* et *HIF2A*) et dix gènes suppresseurs de tumeur (*NF1*, *VHL*, *SDHA*, *SDHB*, *SDHC*, *SDHD*, *SDHAF2*, *FH*, *TMEM127* et *MAX*). Environ 40% des patients atteints sont porteurs d'une mutation constitutionnelle sur l'un de ces gènes. En outre, des mutations somatiques des gènes *NF1*, *VHL*, *RET*, *HIF2A* et *HRAS* ont été rapportées dans environ 30% de ces tumeurs.

Nous rapportons ici la première analyse génomique intégrée d'une grande collection de 202 PCC/PGL. Dans cette cohorte ont été menées des analyses de transcriptome, miRnome, méthylome, SNParray et séquençage d'exome avec pour objectif de caractériser les principales altérations génomiques régissant le développement de ces tumeurs.

Les données de SNParray ont révélé des profils de variation du nombre de copies fortement associés au contexte génétique. Le séquençage d'exome a montré un faible taux de mutation (0,3 mutations/mégabase) et peu de mutations somatiques récurrentes dans les gènes du cancer non spécifiquement associés au PCC/PGL incluant *TP53*, *CDKN2A* et *MET*.

L'expression des miRNA et les profils de méthylation de l'ADN se sont avérés fortement associés aux clusters définis par l'analyse transcriptomique non-supervisée. Par ailleurs, les tumeurs porteuses d'une mutation constitutionnelle du gène *SDHB* présentent une surexpression du cluster de miRs 182/96/183 qui favoriserait la transformation maligne, tandis que la perte d'expression du cluster DLK1-MEG3 soumis à empreinte génomique apparaît comme un driver potentiel d'un sous-groupe de tumeurs sporadiques.

Au total, nous avons montré que les événements génomiques survenant dans les PCC/PGL sont principalement influencés par les mutations constitutionnelles ou somatiques touchant les gènes majeurs de susceptibilité. Ces altérations permettent la distinction de sous-groupes de tumeurs correspondant à des entités moléculaires bien définies. La connaissance de ces entités devrait permettre de proposer prochainement des thérapies ciblées pour les formes métastatiques de la maladie et ouvrent la voie vers une médecine personnalisée pour les patients atteints.

## ONCOGÉNÉTIQUE

### #2542 : Apport de la génétique dans la prise en charge des cancers familiaux en Algérie

#### Auteurs :

ABIR TALBI (1), asmaa kassoul (2), karima gouaref (3), amar chikouche (1), malika Ait abdellah (1), lakhdar Griene (1)

1. Laboratoire de Biochimie et Génétique Moléculaire, Université Alger 1 / Laboratoire d'Hormonologie , CPMC-Alger, alger, Algérie
2. Laboratoire de Biochimie et Génétique Moléculaire, Université Alger 1 / Laboratoire d'Hormonologie, CPMC-Alger , CPMC-Alger, alger, Algérie
3. Service Chirurgie (femme), CPMC-Alger, alger, Algérie

**Mots clefs :** BRCA1, BRCA2, APC, MUTYH, MLH1, MSH2, MSH6

#### Résumé :

##### **Introduction**

La recherche des mutations génétiques et des marqueurs moléculaires diagnostiques et pronostiques est un challenge important en oncogénétique, en particulier dans la prise en charge des cancers familiaux. Les progrès technologiques spectaculaires en biologie moléculaire ont permis d'identifier de nombreux gènes impliqués dans les pathologies sporadiques et héréditaires.

L'utilisation en pratique médicale de ces méthodes d'investigation moléculaire, en particulier pour les cancers héréditaires, améliore significativement la prise en charge et le choix thérapeutique des patients cancéreux, et facilite le dépistage précoce chez les apparentés.

Nous nous proposons de présenter l'expérience du Laboratoire d'Hormonologie du CPMC d'Alger dans la prise en charge des cancers familiaux, en particulier le cancer colorectal et le cancer du sein.

**Matériels et Méthodes** : 22 familles ont été sélectionnées en consultation d'oncogénétique du Laboratoire d'Hormonologie du CPMC, parmi lesquelles 9 nous ont été adressées pour un ou plusieurs cas de cancer du sein et ou de l'ovaire et 13 familles pour des antécédents personnels ou familiaux de cancer colorectal. Deux prélèvements sanguins, dans des tubes contenant de l'EDTA, sont effectués pour chaque cas index après information et consentement éclairé. L'extraction d'ADN est réalisée par la technique de précipitation par des sels (salting out). L'analyse des gènes BRCA1, BRCA2, APC, MUTYH, MLH1, MSH2, MSH6 est effectuée par séquençage par électrophorèse capillaire (technique de Sanger) après amplification de l'ADN.

##### **Résultats**

**Cancer du sein** : Une mutation délétère c.83-84delTG (p. Leu 28 Arg fsx12) et 2 UVs (unknown variants) potentiellement associés au cancer du sein [c.5309G > T (p.G1770V), c.981A > G (p. Thr327Thr) + c.2733G > A (p. Gly911Gly) + c.3024G > A (p. Met1008Ile)] ont été découverts, respectivement, dans les exons 3, 21 et 11 du gène BRCA1. Plusieurs polymorphismes ont été identifiés concernant ce même gène : Ser1436Ser ; c.5106-68A>G (IVS16-68A>G) + c.5106-92A>G (IVS16-92A>G).

**Cancer colorectal** : 3 mutations délétères c.2103+2\_c.2103+21del, c.4216C > T ; Q1406\*, Y165C+R168C) ont été découvertes, respectivement dans les gènes MLH1, APC et MUTYH. Plusieurs polymorphismes (SNP) ont également été identifiés.

##### **Conclusion**

L'amélioration de la prise en charge du cancer familial nécessite une équipe pluridisciplinaire dans laquelle l'exploration génétique joue un rôle majeur. En effet, les tests génétiques permettent le diagnostic de la mutation délétère chez le cas index et facilite le dépistage précoce chez les apparentés, ce qui permet une prise en charge thérapeutique adéquate

## ONCOGÉNÉTIQUE

### #2582 : Intérêt du séquençage haut-débit dans la détection des gènes de susceptibilité aux cancers du sein et/ou de l'ovaire autre que BRCA

#### Auteurs :

Marie Eliade (1), Jérémy Skrzypski (2), Amandine Baurand (1), Caroline Jacquot (1), Geoffrey Bertolone (1), Catherine Loustalot (3), Charles Coutant (3), France Guy (3), Pierre Fumoleau (3), Yannis Duffourd (1), Frédérique Vegran (3), François Ghiringhelli (3), Romain Boidot (2), Sarab Lizard (2), Laurence Faivre (1)

1. Centre de génétique, CHU Dijon, Dijon, France
2. Oncogénétique, Centre Georges François Leclerc, Dijon, France
3. Oncologie, Centre Georges François Leclerc, Dijon, France

**Mots clés :** BRCA1, BRCA2, cancer du sein, cancer de l'ovaire, panel de gènes, séquençage haut-débit

#### Résumé :

La plupart des cas de susceptibilité aux cancers du sein et de l'ovaire reste inexpliquée. Avec la découverte récente de nouveaux gènes impliqués dans la susceptibilité aux cancers du sein et de l'ovaire, tester plusieurs gènes en une fois grâce au séquençage haut-débit est devenu un atout.

583 patients originaires de Bourgogne et remplissant les critères d'analyse *BRCA1* et *BRCA2* ont été analysés en utilisant un panel de 25 gènes dont 22 de susceptibilité aux cancers du sein et/ou de l'ovaire (*BRCA1*, *BRCA2*, *BARD1*, *CHEK2*, *RAD51C*, *BRIP1*, *RAD50*, *MRE11A*, *PALB2*, *STK11*, *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *EPCAM*, *PMS2*, *PTCH1*, *PTCH2*, *CDH1*, *TP53*, *ATM*, *PTEN*, *PIK3CA*).

Une mutation délétère *BRCA1/2* a été retrouvée chez 8 % (n=48) des patients, soit un pourcentage conforme à celui attendu. D'autre part, nous avons trouvé 38 mutations délétères ou probablement délétères dans 12 gènes différents. Les gènes les plus fréquemment mutés étaient *CHEK2* (n=12 ; 2%), *ATM*(n=9 ; 1.5 %), et *PALB2* (n=4 ; 0.6%). Les autres mutations identifiées se distribuent de la façon suivante : *PMS2* : n=3 (0,5%), *TP53* : n=3 (0,5%), *BARD1* : n=2 (0,3%), *BRIP1* : n=1 (0,2%), *RAD50* : n=1 (0,2%), *STK11* : n=1 (0,2%), *MLH1* : n=1 (0,2%) et *PTCH1* : n=1 (0,2%). De façon intéressante, 3 double-hits ont été détectés chez 3 patientes différentes : *TP53* et *PALB2*, *BRCA2* et *CHEK2*, *BRCA1* et *PMS2*. Parmi les 4 mutations pathogènes retrouvées dans des gènes MMR, il s'agissait dans 3 cas de femmes jeunes ayant présenté un cancer du sein sporadique.

Plusieurs éléments de discussion peuvent être soulevés de cette étude : 1) un travail collaboratif va être nécessaire pour définir la surveillance à proposer dans les cas où la pénétrance et le spectre clinique sont mal connus ; 2) les technologies de panel permettent d'identifier des doubles hits qui ne pouvaient être retrouvés avec les techniques classiques, ce qui peut entraîner des problèmes de conseil génétique ; 3) une vigilance particulière devra être portée à la littérature concernant l'association cancer du sein et mutations MMR, afin de déterminer si ces observations doivent être considérées comme des données incidentales ou non.

## ONCOGÉNÉTIQUE

**#2646 : Une ressource française unique pour étudier l'héritabilité manquante du cancer du sein : description de la population de l'étude GENESIS**

### Auteurs :

Olga Sinilnikova (1), Séverine Eon-Marchais (2), Marie-Gabrielle Dondon (2), Francesca Damiola (1), Laure Barjhoux (1), Morgane Marcou (2), Carole Verny-Pierre (1), Valérie Sornin (1), Lucie Toulemonde (2), Juana Beauvallet (2), Dorothée Le Gal (2), Noura Mebirouk (2), Muriel Belotti (3), Olivier Caron (4), Marion Gauthier-Villars (3), Isabelle Coupier (5), Bruno Buecher (3), Alain Lortholary (6), Catherine Dugast (7), Paul Gesta (8), Jean-Pierre Fricker (9), Catherine Nogues (10), Laurence Faivre (11), Elisabeth Luporsi (12), Pascaline Berthet (13), Capucine Delnatte (14), Valérie Bonadona (15), Christine Maugard (16), Pascal Pujol (5), Christine Lasset (17), Michel Longy (18), Yves-Jean Bignon (19), Claude Adenis (20), Laurence Venat-Bouvet (21), Liliane Demange (22), Hélène Dreyfus (23), Marc Frenay (24), Laurence Gladiéff (25), Isabelle Mortemousque (26), Séverine Audebert-Bellanger (27), Florent Soubrier (28), Sophie Giraud (29), Sophie Lejeune-Dumoulin (30), Annie Chevrier (31), Jean-Marc Limacher (32), Jean Chiesa (33), Anne Fajac (34), Anne Floquet (18), François Eisinger (35), Julie TINAT (31), Chrystelle Colas (36), Sandra Fert-Ferrer (37), Clotilde PENET (38), Thierry Frebourg (31), Marie-Agnès Collongue-Rame (39), Emmanuelle Barouk-Simonet (18), Valérie Layet (40), Dominique Leroux (41), Odile Cohen-Haguenaer (42), Fabienne Prieur (43), Emmanuelle Mouret-Fourme (10), François Cornélis (44), Philippe Jonveaux (45), Odile Bera (46), Eve Cavaciuti (2), Fabienne Lesueur (2), Sylvie Mazoyer (1), Dominique Stoppa-Lyonnet (47), Nadine Andrieu (2)

1. , Cancer Research Centre of Lyon, CNRS UMR5286, Inserm U1052, Université Claude Bernard Lyon 1, Centre Léon Bérard, Lyon, France
2. , Inserm U900 - Institut Curie - Mines ParisTech, Paris, France
3. Service de Génétique, Institut Curie, Paris, France
4. Département de Médecine Oncologique, Gustave Roussy Hôpital Universitaire, Villejuif, France
5. Service de Génétique médicale et Oncogénétique, Hôpital Arnaud de Villeneuve, CHU Montpellier, Montpellier, France
6. Service d'Oncologie Médicale, Centre Catherine de Sienne, Nantes, France
7. Service de Génétique, Centre Eugène-Marquis, Rennes, France
8. Service Oncogénétique pour la consultation oncogénétique régionale Poitou-Charentes, CH Georges Renon, Niort, France
9. Unité d'Oncologie, Centre Paul Strauss, Strasbourg, France
10. , Institut Curie, Hôpital René Huguenin, Saint Cloud, France
11. Service de Génétique Médicale, Hôpital d'Enfants, Dijon, France
12. Unité d'Oncogénétique, ICL Alexis Vautrin, Vandoeuvre-lès-Nancy, France
13. Unité de pathologie gynécologique, Centre François Baclesse, Caen, France
14. Unité d'Oncogénétique, Centre René Gauducheau, Nantes Saint Herblain, France
15. , Université Claude Bernard Lyon 1, CNRS UMR 5558, Centre Léon Bérard, Array, France
16. Laboratoire de diagnostic génétique, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, UF1422 Oncogénétique moléculaire, Strasbourg, France
17. , Université Claude Bernard Lyon 1, CNRS UMR 5558, Centre Léon Bérard, Lyon, France
18. , Institut Bergonié, Bordeaux, France
19. , Centre Jean-Perrin, Clermont-Ferrand, France
20. , Centre Oscar Lambret, Lille, France
21. Service d'Oncologie Médicale, Hôpital Universitaire Dupuytren, Limoges, France
22. , Polyclinique Courlancy, Reims, France
23. , Clinique Sainte Catherine, Avignon, France
24. Unité d'Oncogénétique, Centre Antoine Lacassagne, Nice, France
25. Service d'Oncologie Médicale, Institut Claudius Regaud – IUCT-Oncopole, Toulouse, France
26. Service de Génétique, Hôpital Bretonneau, Tours, France
27. Département de génétique médicale en pédiatrie, CHU Brest, Hôpital Morvan, Brest, France
28. , Hôpital Tenon, Paris, France
29. Service de Génétique Moléculaire, Hôpital Edouard Herriot, Lyon, France
30. Service de génétique clinique Guy Fontaine, Hôpital Jeanne de Flandre, Lille, France
31. Département de Génétique, Hôpital Universitaire de Rouen, Rouen, France
32. Service d'Onco-hématologie, Hôpital Pasteur, Colmar, France
33. , CHRU Hôpital Caremeau, Nîmes, France
34. Service d'Oncogénétique, Hôpital Tenon, Paris, France
35. Département d'Anticipation et de Suivi des Cancers, IPC, Inserm, UMR 912, Marseille, France

36. Département de Génétique, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, APHP, Paris, France
37. , Centre Hospitalier de Chambéry, Chambéry, France
38. , Institut Jean-Godinot, Reims, France
39. Service Génétique et Biologie du Développement, CHU Hôpital Saint-Jacques, Besançon, France
40. , Hôpital Flaubert, Le Havre, France
41. Département de Génétique, CHU de Grenoble, Hôpital Couple-Enfant, Grenoble, France
42. , Hôpital Saint-Louis, Paris, France
43. Service de Génétique, CHU de Saint-Etienne, Hôpital Nord, Saint-Etienne, France
44. , Hôpital Lariboisière, Centre Viggo-Petersen, Paris, France
45. Laboratoire de Génétique, CHU Hôpital de Brabois, Vandœuvre-lès-Nancy, France
46. Unité d'Oncogénétique, CHU de Martinique, Fort-de-France, France
47. , Institut Curie, Inserm U830, Université Paris-Descartes, Paris, France

**Mots clefs :** cancer du sein, gènes de prédisposition, interaction gène-environnement

**Résumé :**

Moins de 20% des femmes atteintes de cancer du sein (CS) survenant dans un contexte familial présentent une mutation dans les gènes *BRCA1* ou *BRCA2*. L'étude GENESIS (GENE SISter) a été mise en place pour identifier de nouveaux gènes de prédisposition et évaluer leur rôle dans l'apparition d'un CS ainsi que celui de facteurs non génétiques qui pourraient modifier leur effet et ainsi permettre une meilleure prise en charge des femmes à risque.

La population d'étude est constituée de cas index ayant un adénocarcinome mammaire infiltrant ou un carcinome intra-canalair, non porteurs d'une altération de *BRCA1* ou *BRCA2* et ayant au moins une sœur atteinte de CS. Ces femmes, sollicitées par les consultations d'oncogénétique du Groupe Génétique et Cancer (GGC) d'Unicancer, invitent à l'étude leurs sœurs atteintes et indemnes ainsi qu'au moins un témoin non apparenté. Les inclusions dans l'étude sont gérées par la Plateforme d'Investigation en Génétique et en Epidémiologie (PIGE) (Inserm U900, Paris). Les prélèvements biologiques sont centralisés par le Centre de Ressources Biologiques (Hospices Civils/Centre Léon Bérard, Lyon). L'étude GENESIS est fondée sur 1) l'enrichissement de la population en facteurs génétiques par recrutement sur des critères familiaux 2) la prise en compte des facteurs environnementaux ou de style de vie et d'endophénotypes comme la densité mammaire ou les caractéristiques tumorales afin d'évaluer l'hétérogénéité génétique potentielle.

L'inclusion des participants s'est déroulée de février 2007 à fin décembre 2013. 1721 cas index, 826 sœurs atteintes, 599 sœurs indemnes et 1419 témoins non apparentés ont été inclus. 98% des participants ont complété le questionnaire épidémiologique, 97% ont réalisé un prélèvement sanguin et 75% ont fourni des mammographies. En moyenne, les cas index avaient 59 ans à l'inclusion et 49,7 ans au diagnostic du CS. L'âge moyen au diagnostic de sœurs atteintes était sensiblement plus élevé (51,4 ans). Les témoins ont été recrutés parmi les amies ou les collègues des cas. La représentativité de ce groupe en termes d'antécédents familiaux de cancer a été vérifiée. Nous n'avons pas observé de risque familial augmenté de CS, ni de cancer tout site dans cette population témoin. Les limites de GENESIS sont un taux d'accord de participation modéré (autour de 50%) pour chaque catégorie de participants et un pourcentage très élevé de cas prévalents (seulement 5,5% ont été inclus dans l'année civile de leur diagnostic). Ces limites devront être prises en compte lors de la recherche des gènes de prédisposition au CS afin d'éviter des erreurs d'interprétation.

## ONCOGÉNÉTIQUE

### #2694 : Estimation des risques de cancer « hors spectre » (pancréas, sein et prostate) associés à une mutation constitutionnelle d'un gène MMR

#### Auteurs :

Valerie BONADONA (1), Youenn DROUET (1), Hermine CHAUVIN (2), Elodie PLEynet (2), Sylvianne OLSCHWANG (3), Sophie GRANDJOUAN (4), Jean-Pierre FRICKER (5), Michel LONGY (6), Rosine GUIMBAUD (7), Capucine DELNATTE (8), Olivier CARON (9), Chrystelle COLAS (10), Catherine NOGUES (11), Thierry FREBOURG (12), Yves-Jean BIGNON (13), Sophie LEJEUNE-DUMOULIN (14), Jacqueline DUFFOUR (15), Bruno BUECHER (16), Dominique STOPPA-LYONNET (16), Pascaline BERTHET (17), Sophie GIRAUD (18), Jean-Christophe SAURIN (19), Françoise DESSEIGNE (20), Laurence FAIVRE (21), Dominique LEROUX (22), Catherine DUGAST (23), Christine M MAUGARD (24), Pierre LAURENT-PUIG (25), Tan Dat NGUYEN (26), Sylvie MANOUVRIER (14), ISABELLE COUPIER (27), Paul GESTA (28), Hagay SOBOL (29), Qing WANG (30), Bernard BONAÏTI (31), Catherine BONAÏTI-PELLIE (31), Christine LASSET (1)

1. Unité de Prévention et Epidémiologie Génétique, Centre Léon Bérard et CNRS UMR 5558, LYON, France
2. Unité de Prévention et Epidémiologie Génétique, Centre Léon Bérard, LYON, France
3. INSERM UMR S910, Faculté de Médecine, MARSEILLE, France
4. Oncogénétique Digestive, Hôpital Cochin APHP, PARIS, France
5. Oncologie Génétique, Prévention et Dépistage, Centre Paul Strauss, STRASBOURG, France
6. Laboratoire de Génétique moléculaire, Institut Bergonié, BORDEAUX, France
7. Consultation d'Oncologie Génétique, Institut Claudius Regaud et CHU de Toulouse, TOULOUSE, France
8. Service d'Oncogénétique, ICO René Gauducheau, NANTES SAINT HERBLAIN , France
9. Consultation d'Oncologie Génétique, Gustave Roussy Hôpital Universitaire, VILLEJUIF, France
10. Département de Génétique et INSERM UMRS 938, APHP Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière et Université Pierre et Marie Curie, PARIS, France
11. Service d'Oncogénétique, Hôpital René Huguenin - Institut Curie, SAINT CLOUD, France
12. Service de Génétique et INSERM U614, Faculté de Médecine-Pharmacie/Université de Rouen et CHU de Rouen, ROUEN, France
13. Service Oncogénétique, Centre Jean Perrin, CLERMONT-FERRAND, France
14. Service de Génétique Clinique, CHRU de Lille et Université Lille 2, LILLE, France
15. Service d'Oncogénétique digestive, Centre Val d'Aurelle, MONTPELLIER, France
16. Service de Génétique Oncologique, Institut Curie, PARIS, France
17. Consultation d'Oncogénétique, Centre François Baclesse, CAEN, France
18. Service de Génétique Moléculaire et Clinique, Hôpital Edouard Herriot, Hospices Civils de Lyon, LYON, France
19. Service de Gastro-entérologie, Hôpital Edouard Herriot, Hospices Civils de Lyon, LYON, France
20. Unité Clinique d'Oncologie Génétique, Centre Léon Bérard, LYON, France
21. Centre de Génétique, Hôpital d'Enfants, DIJON, France
22. Département de Génétique et Procréation, Hôpital Couple-Enfants, CHU de Grenoble, GRENOBLE, France
23. Service d'Oncologie Génétique, Centre Eugène Marquis, RENNES, France
24. UF1422 Oncogénétique Moléculaire et UF6948 Oncogénétique, Evaluation familiale et suivi, CHRU Strasbourg, STRASBOURG, France
25. UMR-S 1147, Université Paris Descartes, PARIS, France
26. Consultation d'Oncogénétique, Institut Jean Godinot, REIMS, France
27. Service de Génétique médicale et Oncogénétique, CHU de Montpellier, MONTPELLIER, France
28. Service d'Oncogénétique, CHR Georges Renon, NIORT, France
29. Département d'Oncologie Génétique et INSERM U891, Institut Paoli-Calmettes et Université de la Méditerranée, Aix-Marseille II , MARSEILLE, France
30. Laboratoire de génétique constitutionnelle des cancers fréquents, Centre Léon Bérard, LYON, France
31. 24 ter rue de Trey 25000 BESANCON, , BESANCON, France

**Mots clefs :** Syndrome de Lynch, gènes MMR, estimations des risques de cancer « hors spectre », cancer du pancréas, cancer du sein, cancer de la prostate.

#### Résumé :

Le syndrome de Lynch (SL) est une prédisposition héréditaire au cancer associée à la transmission autosomique dominante d'une mutation constitutionnelle d'un gène MMR (MisMatch Repair), principalement *MLH1*, *MSH2* et *MSH6*. Les porteurs de mutations MMR sont à risque élevé de cancer colorectal et de cancer de l'endomètre. Le

spectre tumoral du SL inclut également les cancers de l'ovaire, de l'intestin grêle, des voies excrétrices urinaires, des voies biliaires et de l'estomac. La connaissance précise des risques tumoraux est essentielle pour une prise en charge optimale des patients. L'étude française ERISCAM, réalisée sous l'égide de l'«Unicancer Genetic Group», a estimé les risques de cancer de ce spectre chez les porteurs de mutation parmi 537 familles provenant de 40 centres de consultation d'oncogénétique (Bonadona et al. JAMA 2011).

A partir des données de cette étude, nous avons estimé les pénétrances de 3 autres localisations tumorales, le pancréas, le sein et la prostate, dont l'appartenance au spectre du SL est discutée. A été développée une fonction R, intégrant la méthode GRL (Genotype Restricted Likelihood) qui permet le calcul d'estimations s'affranchissant des biais de sélection des familles (Bonaïti et al. EJHG 2011), pour estimer les risques de cancer (Risques absolus Cumulés (RC), Risques Relatifs (RR) par rapport à la population générale) par une fonction de survie paramétrique selon un modèle de Weibull.

Le RC à 70 ans de cancer du pancréas est de 3,8 % (IC 95% 0,1-33,7) chez l'homme et de 0,1 % (0-27,6) chez la femme ; les RR, non statistiquement significatifs (NS), sont respectivement de 8,3 (0,2-72,8) et de 0,3 (0-146,2). Le RC à 70 ans de cancer de la prostate est de 0,7 % (0,1-4,9) ; le RR (NS) de 0,3 (0,1-2,3). Le RC à 70 ans de cancer du sein (chez la femme) est de 20,4 % (3,3-45,0) ; le RR (NS) de 3,4 (0,5-7,5). Aucune différence significative n'est retrouvée selon le gène muté, mais les porteurs de mutation *MLH1* pourraient avoir un risque plus élevé de développer un cancer du pancréas (RC à 70 ans de 6,1% ; IC 0,1-35,3) et un cancer du sein (RC à 70 ans de 29,1 % ; IC 9,1-60,2), par comparaison aux porteurs de mutation des gènes *MSH2* et *MSH6* (0,3 % (0-32,2) et 1,4 % (0-5,5) respectivement, pour le cancer du pancréas ; 13,9% (1,9-72,7) et 12,8% (0-30,7) respectivement, pour le cancer du sein).

Il est essentiel de confirmer ces résultats sur des études de plus grande envergure avant d'envisager de modifier les recommandations de prise en charge du SL. Le projet OFELY (Observatoire Français pour l'Etude du SL), va constituer une ressource de familles plus large et plus informative pour estimer les risques tumoraux des 3 localisations étudiées, ainsi que d'autres localisations rares hors spectre.

## ONCOGÉNÉTIQUE

### #2708 : Comparaison du génotype et du phénotype des cancers du sein chez la femme jeune au nord et au sud de la Méditerranée : l'étude MédiSein

#### Auteurs :

Carole CORSINI (1), Héléna BERTET (2), Virginie GALIBERT (1), Paul VILQUIN (3), Assia BENSALÉM (4), Sarra HENOUDA (4), Hamouda BOUSSEN (5), Dalel BEN NEJIMA (5), Faouzi HABIB (6), Asma MOUHOUT (7), Ahmed GABALLAH (8), Isabelle COUPIER (1), Ornellia MOPHAWÉ (1), Jean-Marc REY (3), Marie-Christine PICOT (2), Pascal PUJOL (1)

1. Service de génétique médicale, Unité d'oncogénétique clinique, CHRU Montpellier, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
2. Département de l'Information Médicale, CHRU Montpellier, Hôpital La Colombière, Montpellier, France
3. Département de biopathologie cellulaire et tissulaire des tumeurs, CHRU Montpellier, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
4. Service d'oncologie médicale, CHU Docteur Bendadis de Constantine, Constantine, Algérie
5. Service d'oncologie médicale, Hôpital Abderrahmen Mami, Ariana, Tunisie
6. Service de radiothérapie, Centre d'oncologie Al Azhar, Rabat, Maroc
7. Service d'oncologie médicale, Centre d'oncologie Al Azhar, Rabat, Maroc
8. Service d'oncologie médicale, Centre de Soins ALFA, Caire, Égypte

**Mots clefs :** cancer du sein de la femme jeune (

#### Résumé :

**Introduction:** L'incidence du cancer du sein (CS) est en augmentation dans le monde, y compris chez les femmes jeunes. Il est établi que le CS de la femme jeune (< 40 ans) est plus agressif et présente un phénotype tumoral différent (triple négativité, HER2 positif, marqueur de prolifération Ki67 élevé). Certaines études suggèrent que des différences d'agressivité entre les pays d'Afrique du Nord et les pays occidentaux existent. L'étude MédiSein a comparé entre les deux rives de la Méditerranée le génotype et le phénotype tumoral des femmes ayant développé un CS invasif avant 40 ans.

**Matériels et méthodes:** Cette étude multicentrique a inclus prospectivement et rétrospectivement 455 femmes ayant développé un CS avant l'âge de 40 ans dont 270 en France et 185 en Algérie, Égypte, Maroc et Tunisie. Les facteurs environnementaux et de la vie reproductive, l'âge au diagnostic du CS, le phénotype tumoral (stade TNM, récepteurs hormonaux, statut HER2, grade histo-pronostique SBR, marqueur de prolifération Ki67), les antécédents familiaux de cancers du sein et/ou de l'ovaire et le résultat de l'analyse moléculaire des gènes *BRCA1* et *BRCA2* ont été comparés dans ces deux populations.

**Résultats:** Les facteurs environnementaux et de la vie reproductive sont statistiquement différents entre les deux rives de la Méditerranée. Le stade TNM est plus avancé au Maghreb qu'en France (T3-T4: 43,9 % au Maghreb versus 10% en France,  $p < 0,001$  ; N+: 55,7% vs 42,1%,  $p=0,007$  et M+: 22,5% vs 4,3%,  $p < 0,001$ ). Il y a moins de CS triple négatifs au Maghreb qu'en France (20,1% vs 30,5%,  $p=0,016$ ), le Ki67 > 20% est moins fréquent au Maghreb (47,6% vs 71,6%,  $p=0,004$ ). Le statut HER2 est plus souvent positif au Maghreb qu'en France (35,7% vs 19,1%,  $p < 0,001$ ). La distribution des mutations *BRCA1/BRCA2* est différente en France et au Maghreb. En effet, les patientes maghrébines sont moins souvent porteuses de mutations *BRCA1* que les patientes françaises (5,7% vs 14,8%,  $p=0,003$ ). La proportion de mutations *BRCA2* n'est pas statistiquement différente entre les deux rives (8% au Maghreb vs 6,6% en France,  $p=0,592$ ) mais devient significative en cas de CS sporadiques (mutation *BRCA2*: 7,2% au Maghreb vs 1,1% en France,  $p=0,048$ ). Deux mutations *BRCA2* sont récurrentes au Maroc et en Algérie (respectivement c.7234\_7235insG et c.7654dupA).

**Conclusion:** Le phénotype tumoral est différent entre les deux rives de la Méditerranée. Une triple négativité et un marqueur de prolifération élevé sont plus souvent observés en France, alors que le stade TNM est plus avancé au Maghreb. Les facteurs environnementaux et de la vie reproductive sont très différents, probablement pour des raisons socio-économiques et culturelles. La répartition des mutations *BRCA1/BRCA2* est également différente avec moins de mutations *BRCA1* au Maghreb qu'en France mais un taux équivalent de mutations *BRCA2* avec deux possibles mutations fondatrices *BRCA2* au Maghreb.

## ONCOGÉNÉTIQUE

### #2711 : Application du NGS au diagnostic des neurofibromatose de type 2, schwannomatose et méningiomatose par séquençage nouvelle génération

#### Auteurs :

Camille LOUVRIER (1), Joëlle COHEN (1), Eric PASMANT (2), Dominique VIDAUD (2), Michel VIDAUD (2), Stéphane GOUTAGNY (3), Michel KALAMARIDES (4), Béatrice PARFAIT (2)

1. , , Paris, France

2. Service de Génétique et Biologie Moléculaires, Hôpital Cochin - APHP, PARIS, France

3. Service de Neurochirurgie, Hôpital Beaujon - APHP, CLICHY, France

4. Service de Neurochirurgie, Hôpital Pitié-Salpêtrière - APHP, PARIS, France

**Mots clefs :** NF2, LZTR1, SMARCE1, SMARCB1, séquençage ciblé, NGS

#### Résumé :

La Neurofibromatose de type 2 (MIM 101000) est une maladie autosomique dominante dont la fréquence est estimée à 1/25000. Elle se caractérise principalement par le développement de schwannomes vestibulaires bilatéraux. Les autres manifestations cliniques de la NF2 incluent des méningiomes, des épéndymomes, des schwannomes ainsi que des lésions cutanées et ophtalmologiques. Cette maladie est due à la perte de fonction du gène suppresseur de tumeur *NF2*, situé en 22q12.2. Près de la moitié des patients atteints de NF2 sont des cas sporadiques et des études récentes montrent la présence de mosaïques dans 20 à 30% des cas ce qui complique le diagnostic moléculaire de la maladie. Schwannomes et méningiomes sont également retrouvés dans d'autres maladies avec prédisposition au développement de tumeurs comme la schwannomatose (MIM 162091) et la méningiomatose (MIM 607174). Des mutations germinales des gènes *SMARCB1* et *LZTR1* localisés à proximité du gène *NF2* sont responsables de formes familiales et sporadiques de schwannomatose. Des mutations germinales du gène *SMARCE1* ont été identifiées chez des patients présentant des méningiomes multiples à cellules claires spinaux et crâniens et l'implication du gène *SUFU* a également été décrite dans une forme familiale de méningiomatose. En pratique, le recouvrement phénotypique entre la NF2, la schwannomatose et la méningiomatose rend le diagnostic moléculaire compliqué et une étude simultanée des différents gènes s'impose en cas de doute diagnostique.

Nous présentons les résultats de l'étude des 5 gènes impliqués par séquençage nouvelle génération (NGS) réalisée chez 96 patients chez qui un diagnostic de NF2 (N=37), de schwannomatose (N=29) et de méningiomatose (N=7) avait été posé. Pour 23 patients, le diagnostic clinique n'était pas clairement établi.

Cette stratégie nous a permis d'identifier des mutations ponctuelles et des anomalies du nombre de copies des gènes étudiés. Des altérations du gène *NF2* ont été identifiées chez 13 des 37 patients atteints de NF2 (35%). Pour 6 des 13 patients la mutation était présente à l'état de mosaïque. Une anomalie des gènes *SMARCB1* et *LZTR1* a été identifiée respectivement chez 1 (3%) et 11 (38%) des 29 patients atteints de schwannomatose. Des mutations du gène *SMARCE1* ont été identifiées chez 2 (29%) des 7 patients atteints de méningiomatose. Chez les patients dont le diagnostic clinique n'était pas clairement établi, nous avons identifié une anomalie des gènes *NF2* (N=3 ; 13%), *SMARCB1* (N=1 ; 4%) ou *LZTR1* (N=1 ; 4%).

Le séquençage NGS ciblé des gènes *NF2*, *SMARCB1*, *LZTR1*, *SMARCE1* et *SUFU* constitue une aide au diagnostic clinique puisqu'il nous permet aujourd'hui d'identifier les bases moléculaires de la maladie en cas de doute diagnostique dans près de 22% des cas. Il constitue également une aide pour le conseil génétique grâce à l'identification d'événements en mosaïques. Enfin, nos résultats soulignent le rôle majeur du gène *LZTR1* dans le développement de schwannomes multiples.

## ONCOGÉNÉTIQUE

### #2726 : Perturbations de l’empreinte du locus GNAS dans les adénomes somatotropes humains.

#### Auteurs :

Pauline ROMANET (1), Thomas GRAILLON (2), Catherine ROCHE (3), Morgane PERTUIT (4), Thierry BRUE (5), Alain ENJALBERT (6), Anne BARLIER (3)

1. Laboratoire de biologie moléculaire, APHM, Hôpital la Conception, 13385 Marseille, France, marseille, France
2. Service de neurochirurgie, APHM, Hôpital la Timone Adultes, 13385 Marseille, France, Marseille, France
3. Laboratoire de biologie moléculaire, APHM, Hôpital la Conception, 13385 Marseille, France, Marseille, France
4. Laboratoire de biologie moléculaire, APHM, Hôpital la Conception, 13385 Marseille, France, Marseille, France
5. Service d'endocrinologie, APHM, Hôpital la Conception, 13385 Marseille, France, Marseille, France
6. Aix Marseille Université, CRNS, CRN2M-UMR 7286, Aix Marseille Université, 13344, Marseille, France, Marseille, France

**Mots clefs :** épigénétique, GNAS, hypophyse, tumorigénèse, adénome somatotrope

#### Résumé :

Les adénomes somatotropes sont des tumeurs bénignes qui se développent au dépend de l'hypophyse et sont responsables d'une hypersécrétion d'hormone de croissance (GH) qui entraîne un gigantisme chez l'enfant et une acromégalie chez l'adulte. Le traitement est chirurgical (exérèse) et médical par analogue de la somatostatine (Octéotide et Lanréotide). Les mécanismes impliqués dans la tumorigénèse hypophysaire sont mal compris. Aucune implication des protooncogènes et gènes suppresseurs de tumeurs communs n'a été mise en évidence. Seules des mutations somatiques de l'oncogène gsp sont présentes dans 40% des adénomes somatotropes uniquement. Il a été montré que la présence de l'oncogène gsp est associée à une tumeur de petite taille et de meilleure sensibilité au traitement médical.

L'oncogène gsp résulte de mutations activatrices récurrentes du gène codant pour la sous unité alpha stimulatrice des protéines G hétérotrimériques (G $\alpha$ ). Certains adénomes somatotropes ne portant pas l'oncogène gsp expriment fortement G $\alpha$  et miment les adénomes gsp positif. Ces adénomes répondent mieux au traitement médical. G $\alpha$  est situé dans le locus complexe soumis à empreinte parentale GNAS. Le locus GNAS code pour 4 transcrits alternatifs G $\alpha$ , A/B, NESP, XL $\alpha$ s et un transcrit antisens. L'expression paternelle de G $\alpha$  est éteinte dans certains tissus comme l'hypophyse. L'élément contrôlant l'expression de G $\alpha$  n'est pas située comme classiquement dans son promoteur, mais en amont, dans le promoteur du transcrit A/B au niveau du DMR A/B (Differentially Methylated Region). L'absence de méthylation du DMR A/B paternel dans les tissus soumis à empreinte est associée à l'extinction de l'expression de l'allèle paternel de G $\alpha$ .

Hypothèse : Des perturbations de la méthylation du locus GNAS pourraient être impliquées dans la tumorigénèse hypophysaire.

Matériels et méthode : Nous étudions la méthylation du locus GNAS par pyroséquençage et quantifions par RT-qPCR l'expression des transcrits du locus GNAS dans des adénomes somatotropes humains ne portant pas l'oncogène gsp.

Résultats : L'analyse a porté sur les adénomes hypophysaires 22 patients atteints d'acromégalie, 7 patients ont bénéficié d'un traitement par octréotide avant la chirurgie d'exérèse. Sept adénomes présentent une hyperméthylation du DMR A/B. Les adénomes de 4 patients présentent une hyperexpression de G $\alpha$  (valeurs moyennes : 0 – 478 copies de G $\alpha$ / copies de  $\beta$ glucuronidase), dont trois présentent des niveaux de méthylation supérieurs aux autres adénomes somatotropes (61% Vs 52%, ns). L'hyperméthylation du DMR A/B est associée à une surexpression de G $\alpha$  seulement en cas de traitement médical préchirurgical par octréotide.

Conclusion : Il existe des perturbations de la méthylation du locus GNAS dans les adénomes somatotropes humains qui impliquent des variations d'expression de G $\alpha$ .

## ONCOGÉNÉTIQUE

**#2733 : Identification dans une famille algérienne d'une mutation de BRCA1 combinée à deux variants associés à un risque élevé de cancer ovarien. Identification in an algerian family of a BRCA1 pathogenic mutation combined with two variants associated with a high**

### Auteurs :

nawal habak (1), AMEL LADJEROUD (2), amira guergour (2), AMMAR CHIKOUCHE (1), malika ait abdallah (1), lakhdar griene (1)

1. biochimie et génétique moléculaire , université Alger 1, alger, Algérie
2. oncologie médical, centre pierre et marie curie , alger, Algérie

**Mots clefs :** BRCA1, mutation,variant, branche maternelle, branche paternelle

### Résumé :

*Les mutations BRCA1 et BRCA2 sont impliquées, dans les formes familiales de cancers du sein et / ovaire. La fréquence d'une double mutation BRCA1 ou l'association d'une mutation BRCA1 et d'une mutation BRCA2 est faible : elle est estimée à 1/250 000 individus.*

*Nous rapportons le cas d'une patiente GF, porteuse d'une mutation délétère de BRCA1: c.798\_799 del TT; p.Ser267Lysfsx19, associée à deux variants : c.1067A > G; p.Glu356Arg et c.2612C > T;p.Pro871Leu.*

*Selon une étude récente, la présence simultanée de ces deux variants est associée à un risque élevé de cancer de l'ovaire (Lancet onco 2015-may16/5).*

*Cette patiente GF, âgée actuellement de 49 ans, célibataire, a subi une mastectomie du sein gauche en 1994 (âge 30 ans) pour carcinome canalaire infiltrant triple négatif, puis une mastectomie droite en 2007(13 ans plus tard) pour carcinome canalaire infiltrant grade III triple négatif.*

*En 2012, cette patiente subit une ovariectomie droite dont l'examen histologique de la pièce opératoire identifie un carcinome séreux de haut grade.*

*La patiente MFZ , qui s'est ultérieurement révélée être la demi-soeur du cas index GF, mariée, 4 enfants, âgée de 40 ans, a présenté un cancer du sein gauche, traité par chimiothérapie.*

*Le test génétique réalisé chez MFZ retrouve la mutation c.798\_799 del TT, p.Ser267Lysfsx19 associée au seul variant:c.1067A > G, p.Glu356Arg.*

*Suite à l'évolution favorable sous chimiothérapie et tenant compte du résultat positif du génotypage, une chirurgie prophylactique a été proposée à la patiente MFZ qui n'a adhéré en octobre 2015, qu'à une mastectomie gauche, dont l'étude histologique a montré la présence d'un carcinome canalaire triple négatif.*

*La surveillance régulière, personnalisée de MFZ, ainsi que le criblage de BRCA1 des autres demi-soeurs des branches paternelle et maternelle du cas index devraient nous éclairer sur l'impact éventuel des deux variants sur le phénotype.*

## ONCOGÉNÉTIQUE

**#2740 : Mutations des gènes BRCA1 et BRCA2 dans les cancers du sein et ou de l'ovaire dans une population algérienne. BRCA1 and BRCA2 germline mutations in breast and or ovarian cancer in an Algerian population.**

### Auteurs :

nawal habak (1), AMEL LADJEROUD (2), amira guergour (2), AMMAR CHIKOUCHE (1), malika ait abdallah (1), lakhdar griene (1)

1. biochimie et génétique moléculaire , université Alger 1, alger, Algérie  
2. oncologie médical, centre pierre et marie curie , alger, Algérie

**Mots clefs :** BRCA1, BRCA2, mutation, effet fondateur, Maghreb.

### Résumé :

Le cancer du sein représente le premier cancer de la femme en Algérie où 8 000 nouveaux cas sont en moyenne diagnostiqués chaque année. la majorité de ces cancers sont sporadiques; 5 à 10% d'entre eux sont liés à une prédisposition génétique.

**Objectifs:** Dans le cadre du plan cancer en Algérie, notre laboratoire est impliqué dans la recherche des mutations BRCA1 et BRCA2 dans le cancer du sein et / ou ovaire avec pour objectifs le dépistage ciblé des familles à risque et l'évaluation thérapeutique pour ce type de cancer.

**Matériels et méthodes:** Cette étude est prospective. Elle a débutée en Mars 2015. Elle comporte actuellement 90 patientes, recrutées dans différents services du Centre Pierre et Marie Curie d'Alger. Nous ne rapportons ici que les résultats obtenus chez 24 patientes pour lesquelles l'analyse complète des deux gènes a été réalisée. Les patientes sont réparties en: 16 cas familiaux et 8 cas sporadiques sans histoire familiale, dont l'âge au diagnostic est < 35 ans. Les mutations sont recherchées par séquençage direct des séquences codantes et des jonctions intron-exon (électrophorèse capillaire).

**Résultats:** 5 mutations ont été retrouvées dans notre série: - 4 mutations sont présentes dans BRCA1: c.83\_84 del TG; p.Leu28Argfsx12 (exon3) retrouvée dans 02 familles; c.140G > C, p.Cyst47Tyr (exon 5) retrouvée dans un cancer du sein sporadique; c.798\_799 del TT, p.Ser267Lysfsx19 (exon11) retrouvée dans 01 famille; c.800C > G; p.Ser267x (exon 11) retrouvée dans 03 familles.

- 1 mutation est présente dans BRCA2: c.5645C >

A, p.Ser1882x (exon 11) retrouvée dans 01 famille.

### Conclusions:

Le taux de mutations retrouvé dans nos cas de cancers familiaux est de 43,75% (7/16), taux élevé mais retrouvé dans certaines études.

Les mutations de l'exon 11 de BRCA1 semblent fréquentes dans notre série (2/4).

La mutation c.798\_799 del TT déjà décrite au Maroc et en Tunisie suggère un effet fondateur dans la population maghrébine.

Un test génétique est proposé aux familles dont le cas index est porteur de mutation.

## ONCOGÉNÉTIQUE

**#2773 : Facteurs de la tumorigenèse dans la Néoplasie Endocrinienne Multiple type 2a (NEM2a) familiale.**

### Auteurs :

Khalida Boudaoud (1), Karima Sifi (2), Noureddine Abadi (2)

1. Endocrinologie, CHU Benbadis de Constantine, Constantine, Algérie
2. Unité de génétique, laboratoire de Biochimie, CHU Benbadis de Constantine, Constantine, Algérie

**Mots clefs :** CMT, NEM2a, mutation du gène RET, polymorphisme, biomarqueurs

### Résumé :

**Introduction** La mutation du codon 634 de l'exon 11 du gène RET est associée à des cancers médullaires de la thyroïde (CMT) agressifs, correspondant au niveau C de la classification de l'ATA. Cette mutation est-elle le seul acteur déterminant de la tumorigenèse ?

**Présentation** CMT et Phéochromocytome (PHEO) bilatérale par mutation hétérozygote de l'exon 11 Cys634Tyr du gène RET ont été diagnostiqués chez 4 membres d'une fratrie de 7, âgés de  $32 \pm 6$  ans. La sœur aînée avait un syndrome de Cushing paranéoplasique.

Après  $20 \pm 2.6$  ans de suivi, le bilan est négatif chez le cas index et 1 sœur (après thyroïdectomie totale et subtotale sans curage ganglionnaire). Le CMT est lentement évolutif et métastatique chez la sœur aînée et le frère (après thyroïdectomie totale et curage ganglionnaire). Le PHEO a récidivé chez le frère après 17 ans de suivi. Un syndrome métabolique s'est installé chez le frère et les 2 sœurs. Il n'y a pas d'hyperparathyroïdie et l'ACE est toujours normal.

La même mutation est retrouvée chez 2 enfants et 2 neveux du cas index à l'âge de  $7 \pm 4,7$  ans. Le CMT du fils, opéré à 11 ans, est d'emblé agressif et évolutif depuis 5 ans. Sa fille, opérée à 11 ans, n'a pas développé de CMT et son bilan reste négatif sur 7 ans. Le 1<sup>er</sup> neveu, opéré à 14 ans, a présenté un micro-foyer de carcinome papillaire (PTC) sans signes d'évolutivité sur 7 ans. Le 2<sup>ème</sup> neveu, opéré à 7 ans, a présenté un CMT.

**Discussion** Le pronostic du CMT dépend de la qualité du geste chirurgical et du stade anatomo-clinique. Malgré le cumul de plusieurs facteurs de mauvais pronostic, nos patients ont survécu avec une qualité de vie satisfaisante. Cela pourrait s'expliquer par:

-Un degré de différenciation élevé du CMT

-Une surexpression des gènes suppresseurs de tumeurs au niveau du carcinome,

-Une action inhibitrice sur les récepteurs de l'oncogène RET et des facteurs de croissance à activité tyrosine-kinase exprimés par le CMT (ex. FGF et IGF1).

La variabilité phénotypique intrafamiliale pour une même mutation et l'agressivité plus prononcée chez les enfants, suggèrent la présence de polymorphisme ayant un rôle de modificateur, particulièrement à l'état homozygote retrouvé chez les descendants. Le rôle de l'hyperinsulinisme n'est pas négligeable. La présence de PTC évoque un réarrangement RET/PTC au sein de la tumeur.

**Conclusion** Il existe d'autres facteurs génétiques et épigénétiques intervenant dans le processus d'installation et d'évolution tumorale pouvant avoir un intérêt diagnostic, pronostic et thérapeutique. Inclure la génétique somatique des tumeurs dans le bilan de la maladie pourrait affiner l'établissement du pronostic du CMT.

## ONCOGÉNÉTIQUE

### #2811 : Le Routage : Une réponse à la saturation des consultations d'oncogénétique

#### Auteurs :

Nathalie PARODI (1), Kévin CASSINARI (1), Jean-Christophe THERY (2), Isabelle TENNEVET (2), Pascaline BERTHET (3), Thierry FREBOURG (1)

1. Service de Génétique, Centre Normand de Médecine Génomique et Personnalisée, CHU de Rouen, Rouen, France
2. Service de Génétique, Centre Normand de Médecine Génomique et Personnalisée, CHU de Rouen, ROUEN, France
3. Oncogénétique, Centre Normand de Médecine Génomique et Personnalisée, CRLCC François Baclesse, CAEN, France

**Mots clefs :** Oncogénétique, BRCA, entretien téléphonique de préparation, routage, télémédecine

#### Résumé :

Les consultations d'oncogénétique connaissent une saturation croissante, avec un délai médian en 2013 de 12 semaines pour un cas index. Dans le cadre des cancers du sein et /ou de l'ovaire, la situation s'exacerbe depuis l'introduction des inhibiteurs de PARP qui imposent au préalable de connaître le statut BRCA des patientes. Ce délai risque d'inciter les oncologues à prescrire les analyses génétiques sans concertation avec les généticiens, exposant au risque d'une non information sur l'impact familial d'une analyse positive et d'une interprétation erronée des résultats, en particulier si un variant de signification inconnue est identifié. En s'inspirant des autres pays, comme la Hollande, nous avons mis en place à Rouen, depuis le 26/08/2015, pour chaque nouvelle demande de rendez-vous d'oncogénétique d'un cas index, une stratégie de routage pour traiter de façon stratifiée et séquentielle les demandes de consultations : (1) J0, demande de RDV auprès du secrétariat qui, au téléphone, collecte les informations minimum (identifiants et coordonnées du patient et du médecins l'adressant) et fixe un RDV d'entretien téléphonique de préparation (ETP) de 20 min, dans les 7 jours. Les critères d'exclusion pour l'ETP sont la difficulté de compréhension du français, les personnes sous tutelle et mineures et naturellement le refus de la personne ; (2) J7, ETP réalisé par un conseiller en génétique ou un interne formé. Cet ETP structuré permet de compléter, de façon explicative et directive, un questionnaire sur les antécédents tumoraux personnels et familiaux du patient ; (3) J10, analyse des dossiers avec un oncogénéticien qui effectue un routage avec 3 conclusions possibles : consultation urgente dans les 15 jours après la demande de RDV avec un oncogénéticien, car impact thérapeutique (ex : inhibiteur de PARP ; mastectomie partielle ou complète après chimiothérapie néo-adjuvante) ou situation difficile (pronostic réservé, contexte psychologique...) ; consultation non urgente dans les 3 mois avec le conseiller en génétique ou le médecin (la consultation de rendu de résultat étant systématiquement faite par un médecin) ; pas d'indication retenue de consultation et/ou existence d'un cas index plus approprié dans la famille. Dans ce cas, un courrier est adressé le jour du routage au patient et aux médecins. Chaque semaine, environ 20 ETPs sont réalisés et 20 dossiers de cas index sont traités. Notre expérience des premiers mois montre d'emblée les impacts positifs de ce routage : réduction du temps secrétaire au téléphone ; patients contactés au maximum dans les 7 jours suivant la demande de RDV ; suppression de consultations non justifiées et de déplacements inutiles de patients ; diminution du délai de RDV et surtout optimisation du temps médical. Cette démarche nous paraît s'intégrer à l'esprit de la télémédecine qui se développe actuellement en France. Un bilan des 200 premiers ETPs sera présenté aux 8<sup>ème</sup> Assises de Génétique Humaine et Médicale.

## ONCOGÉNÉTIQUE

### #2843 : Bilan de l'activité d'oncogénétique pédiatrique : faut-il proposer systématiquement une consultation d'oncogénétique à tous les enfants présentant une néoplasie ?

#### Auteurs :

Ornellia Mophawé (1), Karine Lopez-Perrin (2), Laure Saumet (2), Stéphanie Haouy (2), Anne-Charlotte Teyssier (2), Pascal Pujol (1), Nicolas Sirvent (2), Isabelle Coupier (1)

1. Département de génétique, unité d'oncogénétique clinique, CHRU Montpellier, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
2. Service d'onco-hématologie pédiatrique, CHRU Montpellier, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France

**Mots clefs :** Oncogénétique, onco-hématologie pédiatrique, cancer, cas index, apparenté, mutation constitutionnelle délétère, systématique

#### Résumé :

Il est décrit que 10% des enfants atteints de cancer présentent une prédisposition héréditaire. L'identification d'une mutation constitutionnelle délétère (MCD) permet de proposer à l'enfant une prise en charge personnalisée et la réalisation des analyses génétiques ciblées chez ses apparentés.

Depuis 3 ans, l'unité d'oncogénétique du CHU de Montpellier collabore avec le service d'onco-hématologie pédiatrique afin de proposer une consultation d'oncogénétique à un certain nombre d'enfants ayant un diagnostic de néoplasie.

Nous présentons ici, le bilan de 3 ans d'activité en oncogénétique pédiatrique. 81 enfants âgés de 0 à 19 ans au moment de leur consultation ont été vus en oncogénétique entre le 01/01/2012 et le 01/07/2015. 62% (50) des enfants avaient développé un cancer (cas index) et 38% (31) étaient des apparentés indemnes en dehors de deux enfants qui présentaient une polypose. Parmi les néoplasies, nous retrouvons des hémopathies (9), des tumeurs des tissus mous (9), des tumeurs du système nerveux (7), des tumeurs endocriniennes (6) qui sont les plus représentées. Sont également retrouvés des sarcomes (4), des maladies de bannayan riley ruvalcaba (3), des rétinoblastomes (3), des tumeurs cutanées (3), des tumeurs digestives (3), des tumeurs rénales (3) et des pleuro-pneumoblastomes de type I (2).

Durant cette période, 41 analyses génétiques ont été prescrites chez les cas index. Les gènes analysés étaient APC, DICER1, FH, FLCN, NF1, NF2, PATCHED1, PTEN, RB1, RET, SDHB, TP53 et VHL. Il a été retrouvé chez 10 enfants (21%) une MCD portant sur les gènes APC, NF1, PATCHD1, PTEN, RB1, SDHB et TP53. Chez 18 enfants (37%) les résultats n'identifiaient aucune mutation sur les gènes APC, DICER1, NF2, PTEN, RB1, RET, SMARCB1, TP53 et VHL. L'analyse des gènes FH, FLCN, NF1 et TP53 est toujours en cours pour 13 enfants (27%). Chez 7 enfants (15%) aucune indication d'étude génétique n'a été retenue (enfants présentant essentiellement des hémopathies).

L'identification d'une MCD chez les cas index a permis de proposer 29 analyses génétiques ciblées chez les apparentés. Comme attendu, nous avons identifié chez 45% des enfants une mutation. De plus, en cas de MCD, il est possible de proposer un DPN, un DPI et/ou de répondre aux interrogations des parents sur le risque de récurrence dans la fratrie.

Au total chez les cas index, nous avons identifié 21% de MCD. Notre effectif étant de petite taille (81 cas index et apparentés), il nous semble important de poursuivre ce projet dans le cadre de l'évaluation de nos pratiques médicales afin de confirmer l'intérêt d'une consultation d'oncogénétique pédiatrique systématique.

## ONCOGÉNÉTIQUE

**#2855 : Intérêt de l'immunohistochimie mutation ciblée dans le diagnostic du cancer bronchique non à petites cellules.**

### Auteurs :

Zohra MRAIHI (1), Jihène BEN AMMAR (2), Amel HAMZA (3), Soumaya RAMMEH (4), Rachida ZERMANI (4), Hind BOUACHA (2), Lamia HILA (5)

1. Département de génétique, Faculté de Médecine de Tunis Université Tunis El Manar, Tunis, Tunisie
2. Service de pneumologie, EPS Charles Nicole, Tunis, Tunisie
3. Service d'anatomie et de cytologie pathologiques, EPS Charles Nicole, Tunis, Tunisie
4. Service d'Anatomie et de Cytologie Pathologiques, EPS Charles Nicole Tunis, Tunis, Tunisie
5. Département de Génétique, Faculté de Médecine de Tunis Université Tunis El Manar, Tunis, Tunisie

**Mots clefs :** Immunohistochimie, cancer bronchique non à petites cellules, mutations, del E746-A750, L858R

### Résumé :

**Introduction :** Le cancer du poumon représente la première cause de mortalité par cancer dans le monde. La Tunisie ne fait pas exception puisqu'il est le cancer le plus fréquent.

La surexpression des récepteurs à tyrosine kinase (TK), en particulier l'EGFR (Récepteur du Facteur de Croissance Epidermique), est corrélée à la progression et invasion tumorales. La littérature estime que 10 à 35% des cancers bronchiques non à petites cellules (CBNPC) présentent des mutations de l'EGFR.

La thérapie ciblée est l'objet de toutes les attentions en oncologie: basée sur la mise en évidence au sein des tumeurs d'altérations génomiques (mutation, amplification génique, réarrangement chromosomique...) dont la plupart sont recherchées par des techniques de biologie moléculaire.

Une alternative basée sur l'évaluation du niveau d'expression de molécules cibles par immunohistochimie (IHC) a vu le jour et plusieurs anticorps sont commercialisés pour mettre en évidence, sur des coupes tissulaires déparaffinées, des bio-marqueurs associés à l'administration de thérapies ciblées en oncologie pulmonaire.

**Matériel et méthodes :** Nous nous sommes proposés de rechercher des mutations de l'EGFR, chez 19 patients Tunisiens atteints de CBNPC, par IHC mutation ciblée, à partir de biopsies de petite taille. Le screening a été réalisé par des anti-EGFR mutés ciblant les mutations les plus fréquentes, del E746-A750 (exon 19) et L858R (exon 21), sur des sections de tissus fixés en paraffine de 3 µm d'épaisseur.

**Résultats-Discussion :** L'analyse des résultats a été basée sur l'établissement d'un score en rapport avec l'intensité et le pourcentage des cellules marquées. Le score variant de 0 à 3+.

42 % ont présenté un marquage pour del E746-A750 et 47 % pour L858R, avec des scores supérieurs ou égaux à 2+ pour la majorité des cas. 10,5 % des cas ont présenté une double mutation.

Il est important pour le médecin de connaître le profil mutationnel de l'EGFR des patients, car il permet de déterminer le type de traitement. Une tumeur à profil positif sera très sensible aux traitements ciblés inhibiteurs de la TK alors qu'une à profil négatif retirera plus de bienfaits d'une chimiothérapie. La mise en évidence de mutations multiples, par contre, est en rapport avec une moindre efficacité de réponse.

Dans cette optique, plusieurs inhibiteurs spécifiques de l'activité TK ont été développés pour le traitement du cancer du poumon (Gefitinib, Erlotinib...) entraînant une amélioration de la survie médiane statistiquement supérieure.

Ce travail préliminaire met l'accent sur l'intérêt de l'IHC mutation ciblée dans l'exploration du CBNPC, en Tunisie, en substitution à la biologie moléculaire. En effet, la majorité des biopsies sont de petite taille et il est souvent difficile de faire des études moléculaires (peu d'ADN et/ou non amplifiable car dégradé par la fixation et/ou nécrose).

**Conclusion:** L'IHC mutation ciblée constitue une bonne alternative, à visée théranostique, pour le diagnostic du CBNPC.

## ONCOGÉNÉTIQUE

### #2865 : Mutation en mosaïque du gène TP53 dans le syndrome de Li-Fraumeni

#### Auteurs :

Mariette Renaux-Petel (1), Françoise Charbonnier (2), Gwendoline Lienard (2), Sophie Coutant (2), Myriam Vezain (2), Isabelle Tournier (2), Stéphanie Baert-Desurmont (2), Bruno Leheup (3), Laurence Brugières (4), Thierry Frébourg (2), Gaëlle Bougeard (2)

1. Inserm U1079-IRIB, Service de Génétique - Centre Normand de Génomique Médicale et Médecine Personnalisée, et Clinique Chirurgicale Infantile, Inserm, Université de Rouen et CHU de Rouen, Rouen, France
2. Inserm U1079-IRIB et Service de Génétique - Centre Normand de Génomique Médicale et Médecine Personnalisée, Inserm, Université de Rouen et CHU de Rouen, Rouen, France
3. Service de Médecine Infantile et Génétique Clinique - Hôpital d'Enfants, CHU de Nancy, Vandoeuvre-Lès-Nancy, France
4. Département d'Oncologie Pédiatrique, Institut Gustave Roussy, Villejuif, France

**Mots clefs :** syndrome de Li-Fraumeni, TP53, corticosurréalome, mosaïque

#### Résumé :

Le syndrome de Li-Fraumeni (LFS) est l'une des prédispositions héréditaires aux cancers les plus sévères, résultant de mutations constitutionnelles du gène suppresseur de tumeurs *TP53*. Le LFS se caractérise par le développement précoce d'un large spectre tumoral, mais certaines tumeurs comme les corticosurréaumes sont emblématiques du LFS, avec un taux de détection des mutations constitutionnelles de *TP53* dans 50 % des cas pédiatriques (36 sur 72, Bougeard *et al.* JCO 2015). Nous avons émis l'hypothèse que, parmi les 50 % restants, certains cas pourraient résulter d'une altération de *TP53* non détectable par les techniques utilisées (séquençage Sanger, QMPSF). Nous avons donc analysé le gène *TP53*, en séquençage nouvelle génération (NGS), chez 24 cas pédiatriques sans altération de *TP53*. Notre stratégie combine un enrichissement par capture en phase liquide (SureSelect QXT, Agilent), un séquençage haut-débit sur une plate-forme Illumina MiSeq et un double pipeline bioinformatique. La profondeur moyenne de chaque base est de 400 X. Les pipelines bioinformatiques utilisés permettent de détecter des variations présentes à 10 %.

Nous rapportons ici le cas d'une petite fille ayant présenté une tumeur surrénalienne à l'âge de 8 mois, révélée par un syndrome de virilisation. Il s'agissait d'une lésion isolée de la surrénale gauche, mesurant 10 cm et qui était responsable d'une hyperandrogénie. L'exérèse de la pièce a révélé qu'il s'agissait d'un corticosurréalome à potentiel agressif (score de Weiss à 7). Trois ans plus tard, l'enfant a développé des lésions pulmonaires dont l'analyse histologique a confirmé qu'il s'agissait de métastases de son corticosurréalome. Dans ses antécédents familiaux, il était retrouvé de multiples cas de cancers au second degré (poumon, plèvre, sein, colon et thyroïde). Un syndrome de Li Fraumeni a été évoqué sur ce corticosurréalome de survenue précoce et un séquençage du gène *TP53* a été réalisé chez cette patiente en 2004, selon la technique Sanger, sans révéler de mutation. L'analyse du prélèvement par capture NGS a mis en évidence une mutation non-sens de *TP53* en mosaïque p.[=/Ser183\*] dans environ 20 % des cellules sanguines. Cette mutation a pu être confirmée par une technique ciblée d'extension d'amorce (SNaPshot) sur deux prélèvements sanguins indépendants. L'analyse de l'ADN issu du tissu tumoral a ensuite mis en évidence une perte d'hétérozygotie dans la tumeur (mutation détectée à l'état hémizygoté), ce qui confirme l'implication de cette mutation dans le développement du corticosurréalome et confirme sur des bases moléculaires le diagnostic de LFS.

La détection de mutations de *TP53* en mosaïque, en particulier dans certains cas sporadiques de tumeurs évocatrices de LFS, est désormais rendue possible par les techniques de NGS. Ce diagnostic permettra de rassurer les fratries et de proposer un conseil génétique à ces patients et à leur descendance, le risque de mosaïque germinale ne pouvant être exclu.

## ONCOGÉNÉTIQUE

**#2947 : Mutations gain de fonction d'HIF2A dans les hémangioblastomes cérébraux sporadiques.**

### Auteurs :

Morgane PERTUIT (1), David TAIEB (2), Chunzhang YANG (3), Aurélie TCHOGHANDJIAN (4), Claire ROCHETTE (5), Hélène ZATTARA-CANNONI (6), Dominique FIGARELLA-BRANGER (4), Zhengping ZHUANG (3), Karel PACAK (7), Philippe METELLUS (8), Anne BARLIER (9)

1. Laboratoire de biologie moléculaire, APHM, Hôpital la Conception, 13385 Marseille, France, Marseille, France
2. Service de Médecine Nucléaire, APHM, Hôpital la Timone Adultes, 13385 Marseille, France, Marseille, France
3. National Institute of Neurological Disorders and Stroke, National Institutes of Health, Bethesda, France
4. Service Neuropathologies, APHM, Hôpital la Timone Adultes, 13385 Marseille, France, Marseille, France
5. Service d'endocrinologie, APHM, Hôpital la Timone Adultes, 13385 Marseille, France, Marseille, France
6. Département de Génétique Médicale, APHM, Hôpital la Timone Enfants, 13385 Marseille, France, Marseille, France
7. National Institute of Child Health & Human Development, National Institutes of Health, Bethesda, France
8. Service de neurochirurgie, APHM, Hôpital la Timone Adultes, 13385 Marseille, France, Marseille, France
9. Laboratoire de biologie moléculaire, APHM, Hôpital la Conception, 13385 Marseille, France, Marseille, France

**Mots clefs :** HIF-2alpha, hémangioblastomes, syndrome von Hippel-Lindau, polyglobulie

### Résumé :

Les hémangioblastomes (HBs) du système nerveux central (SNC) apparaissent de manière sporadique ou comme composantes du syndrome de von Hippel-Lindau (VHL). Les HB-SNCs présentent des similitudes avec les phéochromocytomes/paragangliomes (PPGLs) et les carcinomes des cellules rénales (RCCs) qui sont des composantes importantes du syndrome VHL. Récemment le rôle important de facteurs induisant l'hypoxie (HIFs), en particulier des mutations somatiques du gène HIF2A, a été démontré dans la pathogénèse des PPGLs. Des mutations somatiques d'HIF2A ont été identifiées dans des PPGLs associés à une polyglobulie, cette dernière pouvant être présente chez les patients présentant un RCC ou un HB. Dans cette étude nous avons recherché la présence de mutations somatiques d'HIF2A dans une série de 28 HB-SNC sporadiques. Nous avons également regardé l'expression de protéines cibles d'HIF et du facteur associé à l'hypoxie (HAF). Nous avons ainsi pu identifier des mutations somatiques d'HIF2A dans 2 HB-SNCs. Dans l'une des deux tumeurs nous avons identifié 2 mutations faux sens d'HIF2A, dont une précédemment décrite dans un PPGL (p.Phe374Tyr). Dans la deuxième tumeur, nous avons identifié une mutation non sens du gène HIF2A (p.Gln557\*) associée à une mutation de VHL. Aucun de ces deux patients ne présentait de polyglobulie au moment du diagnostic. Cette nouvelle mutation non sens d'HIF2A affecte la prolyl hydroxylation d'HIF-2alpha en diminuant son ubiquitination sans altérer son activité transcriptionnelle et se traduit ainsi par un effet activateur. Dans ces deux tumeurs les protéines VEGFR2, CA9, Glut1 et HAF sont fortement exprimées. L'ensemble de ces résultats démontre le rôle central de la voie de signalisation VHL/HIF-2alpha dans la pathogénèse moléculaire des HB-SNC et montre pour la première fois l'implication de mutations du gène HIF2A dans la tumorigénèse des hémangioblastomes.

## ONCOGÉNÉTIQUE

### #2955 : Mutations de SMARCA4 en oncologie : intérêt et modalités du séquençage

#### Auteurs :

Julien MASLIAH-PLANCHON (1), Sarah WATSON (1), Gaëlle PIERRON (1), Paul FRENEAUX (2), Stelly BALLEST (1), Laetitia MAILLOT (1), Marion GAUTHIER-VILLARS (3), Franck BOURDEAUT (4), Franck TIRODE (5), Olivier DELATTRE (1)

1. Unité de Génétique Somatique, Institut Curie, Paris, France
2. Laboratoire d'anatomopathologie, Institut Curie, Paris, France
3. Service de Génétique Clinique, Institut Curie, Paris, France
4. Service d'oncologie pédiatrique, Institut Curie, Paris, France
5. INSERM U830, Institut Curie, Paris, France

#### Résumé :

Depuis la mise en évidence en 1999 d'altérations du gène *SMARCB1* dans les tumeurs rhabdoïdes, l'implication du complexe SWI/SNF en oncogénèse n'a pas cessé de prendre de l'importance. L'avènement des technologies de screening à haut débit par séquençage nouvelle génération a en effet permis de montrer que des altérations des gènes codant des membres du complexe SWI/SNF sont présentes dans au moins 20% des tumeurs. Le complexe SWI/SNF est un complexe multi-protéique impliqué dans la régulation de la structure chromatinienne. Il est composé d'une douzaine de sous-unités dont BRG1, encodé par le gène *SMARCA4*, qui joue le rôle de sous-unité catalytique.

Les mutations du gène *SMARCA4* ont récemment été retrouvées au niveau tumoral et constitutionnel dans les carcinomes de l'ovaire à petites cellules de type hypercalcémique (SCCOHT en anglais). Ces mutations du gène *SMARCA4* ont également été mises en évidence auparavant dans les rares cas de tumeurs rhabdoïdes sans mutation du gène *SMARCB1*. En plus de son rôle dans la prédisposition aux tumeurs (rhabdoïdes et SCCOHT), des mutations constitutionnelles non tronquantes du gène *SMARCA4* ont également été retrouvées dans certains cas de syndrome de Coffin-Siris. Ce syndrome neuro-développemental ne semble pas être associé à une prédisposition tumorale. Tout récemment, nous avons également montré la présence d'altérations du gène *SMARCA4* dans un sous-type de sarcomes thoraciques. A l'instar des tumeurs rhabdoïdes et des SCCOHT, ces tumeurs sont très agressives et résistantes aux thérapies anti-tumorales conventionnelles. Nous rapportons ici notre expérience de l'analyse du gène *SMARCA4* par séquençage nouvelle génération au sein de notre laboratoire.

En conclusion, l'intérêt de l'analyse du gène *SMARCA4* s'inscrit pleinement dans le concept de l'oncologie moderne pour établir un diagnostic moléculaire précis et/ou proposer une recherche constitutionnelle accompagnée d'un conseil génétique afin d'offrir aux patients une prise en charge optimale.

## ONCOGÉNÉTIQUE

**#3065 : De nouveaux gènes impliqués dans la prédisposition au cancer du sein triple-négatif familial non-BRCA1/2.**

### Auteurs :

Marie Ollier (1), Maud Privat (1), Nina Radosevic-Robin (2), Flora Ponelle (1), Fabrice Kwiatkowski (1), Sandrine Viala (1), Véronique Dedieu (3), Nicolas Sonnier (1), Frédérique Penault-Llorca (2), Yves-Jean Bignon (1), Yannick Bidet (1)

1. Laboratoire d'Oncologie Moléculaire, Centre Jean Perrin, Clermont-Ferrand, France
2. Service de Pathologie, Centre Jean Perrin, Clermont-Ferrand, France
3. Département de Radiothérapie, Centre Jean Perrin, Clermont-Ferrand, France

**Mots clefs :** Cancer du sein, Triple Négatif, Prédisposition Héritaire, BRCA

### Résumé :

**Introduction:** Parmi les cancers du sein, 10 à 15% seraient liés à un risque héréditaire. Une mutation dans les gènes *BRCA1* ou *BRCA2* n'est pourtant retrouvée que dans 15% à 20% de ces cas familiaux. Les cancers du sein triple-négatifs (CSTN) constituent 15% de la totalité des cancers du sein, et représentent généralement des tumeurs agressives pour lesquels nous ne disposons d'aucune thérapie ciblée. Notre hypothèse est que certains patients atteints par un cancer du sein triple-négatif dans un contexte familial pourraient partager une même prédisposition génétique, différente des autres types de cancer.

**Matériel et méthode:** Nous avons inclus rétrospectivement 50 patientes atteintes par un CSTN, non porteuses de mutations dans *BRCA1* et *BRCA2*, et présentant une histoire familiale de cancers. Nous avons étudié 36 gènes candidats par pyroséquençage. Les mutations retrouvées ont été recherchées chez les apparentés des porteurs. L'expression protéique et la présence d'une perte d'hétérozygotie ont été explorées dans les tumeurs des patientes mutées. Ces gènes retrouvés mutés ont été inactivés dans des cellules mammaires afin d'évaluer leur rôle dans la prolifération et la sensibilité aux radiations.

**Résultats:** Parmi les 50 patientes incluses, nous avons identifié 7 mutations hétérozygotes (14% de patientes porteuses d'une mutation versus 2% des contrôles), avec un odd ratio associé de 8,14 [1,30-51,0; p=0,05]. Deux tumeurs présentaient une perte de l'allèle sauvage. L'expression des protéines codées par les gènes mutés était absente dans 4 des 6 tumeurs étudiées. Son inactivation en culture cellulaire confirme le rôle essentiel de PALB2 dans la réparation des cassures double brin.

**Conclusion:** Ne considérer qu'un sous-type spécifique de tumeurs du sein a permis de mettre en évidence de nouveaux gènes de prédisposition, la plupart dans la voie de réparation de l'ADN par recombinaison homologue. Nos résultats suggèrent également un rôle du système de maintenance des télomères dans cette prédisposition. Ceci ouvre de nouvelles possibilités de thérapies ciblées, et permet un meilleur dépistage et une meilleure prise en charge des patients atteints de cancer du sein triple-négatif familial.

## ONCOGÉNÉTIQUE

**#3097 : Mise au point d'une technique de séquençage haut débit par technologie Ion Torrent™ pour l'étude des gènes NF1 et SPRED1. Expérience du centre Neurofibromatose Rhône-Alpes Auvergne.**

### Auteurs :

Stéphane Pinson (1), Adrien Buisson (2), Cécile Chrétien (2), Patrick Combemale (3), Alain Calender (2)

1. Service de Génétique Clinique et Moléculaire / Centre Neurofibromatoses Rhône-Alpes Auvergne, Hopital Edouard Herriot - HCL, Lyon, France
2. Service de Génétique Clinique et Moléculaire, Hopital Edouard Herriot - HCL, Lyon, France
3. Dermatologie / Centre Neurofibromatoses Rhône-Alpes Auvergne, Centre Léon Bérard, Lyon, France

**Mots clefs :** NF1, Neurofibromatose, Légius, SPRED1, NGS

### Résumé :

La neurofibromatose de type 1 (NF1), ou maladie de Von Recklinghausen est l'une des maladies génétiques les plus fréquentes. Elle présente des manifestations cliniques variables associant des atteintes cutanées, neurologiques et certains cancers. Le diagnostic repose sur des critères cliniques établis et connus. Le gène NF1 responsable (gène NF1) code pour la neurofibromine. Le syndrome de Légius, découvert en 2007, se caractérise principalement par la présence de signes cutanés similaires à ceux de la NF1. Le gène mis en cause est le gène *SPRED1* qui peut être analysé pour éliminer ce diagnostic différentiel.

La confirmation par l'analyse moléculaire est parfois utile dans la prise en charge des patients. Elle est proposée principalement en cas de manifestations incomplètes ou atypiques (patient jeune, suspicion de mosaïque) et dans le cadre des demandes de diagnostic pré-natal ou pré-implantatoire.

Actuellement, la stratégie du laboratoire lyonnais repose sur une analyse séquentielle de ces 2 gènes. L'analyse du gène NF1 est composée d'une recherche de grands réarrangements par technique M.L.P.A et d'un criblage par dHPLC des mutations, confirmées par séquençage Sanger.

Pour le gène SPRED1, une recherche par M.L.P.A puis un séquençage systématique des exons par méthode Sanger sont réalisés.

Cette méthode reste longue et couteuse, mais elle permet d'atteindre une sensibilité proche des 95%.

Depuis quelques années, des séquenceurs de 2<sup>ème</sup> génération permettent un séquençage haut débit, avec un gain de temps et un « coût patient » abaissé. Notre laboratoire a mis au point un méthode de fabrication de banque NGS grâce à l'outil Ion Ampliseq™ Designer. Le séquençage a été effectuée par un automate Ion PGM™, (Technologie Ion Torrent™ / Life Technologies®). Cette méthode nous permet de réaliser l'analyse simultanée des régions codantes des gènes NF1 et SPRED1 ainsi que leurs régions 5' et 3' non traduites.

Afin de valider notre étude, les variants de patients précédemment génotypés ont été comparés aux données récoltées par NGS. Les résultats démontrent une bonne sensibilité de la méthode, avec la mise en évidence de la majorité des variants.

L'analyse de séries de nouveaux patients ont été réalisées par séquençage haut débit et en parallèle par les techniques standards. La concordance des résultats permet la validation de la méthode avant mise en production.

Le séquençage de référence Sanger reste à ce jour nécessaire pour la confirmation des variants et pour l'analyse des exons mal couverts en NGS.

La recherche de grands réarrangements est encore à l'étude et reste à améliorer.

Cette nouvelle approche permet d'améliorer le temps de rendu du résultat et le coût de l'analyse.

## ONCOGÉNÉTIQUE

**#3098 : Mosaïque germinale : un challenge diagnostique de la neurofibromatose de type 2. Expérience du centre Neurofibromatose Rhône-Alpes Auvergne.**

### Auteurs :

Stéphane Pinson (1), Alain Drouet (2), Adrien Buisson (3), Cécile Chrétien (3), Patrick Combemale (4), Alain Calender (3)

1. Service de Génétique Clinique et Moléculaire / Centre Neurofibromatoses Rhône-Alpes Auvergne, Hopital Edouard Herriot - HCL, Lyon, France
2. Neurologie / Centre Neurofibromatoses Rhône-Alpes Auvergne, HIA Desgenettes, Bron, France
3. Service de Génétique Clinique et Moléculaire, Hopital Edouard Herriot - HCL, Lyon, France
4. Dermatologie / Centre Neurofibromatoses Rhône-Alpes Auvergne, Centre Léon Bérard, Lyon, France

**Mots clefs :** NF2, Mosaïque, NGS, neurofibromatose

### Résumé :

La neurofibromatose de type 2 est une maladie génétique rare de transmission autosomique dominante. L'utilisation de critères diagnostiques et l'analyse moléculaire du gène NF2 apportent une aide au diagnostic. Ils sont cependant souvent mis en défaut chez les enfants où les manifestations inaugurales diffèrent de l'adulte et pour les cas de mosaïque NF2 (représentant 25 à 30% des cas de novo) où le tableau est parfois incomplet.

L'analyse constitutionnelle se limitant à l'étude moléculaire du cas index sur un simple prélèvement sanguin se révèle, dans ce cas, insuffisante. L'analyse complémentaire, lorsque elle est possible, de la ou des tumeurs du patient et l'analyse de ses apparentés permettent de poser le diagnostic de mosaïque NF2.

L'utilisation du séquençage haut-débit permet une analyse simultanée et comparative des différents prélèvements (sanguins et tumoraux) avec une sensibilité augmentée en comparaison aux techniques standards.

Nous présentons des exemples de patients suivis par notre consultation multidisciplinaire NF2 du centre de compétence Neurofibromatoses Rhône-Alpes Auvergne.

## ONCOGÉNÉTIQUE

**#3099 : Intérêt des microbiopsies guidées par la TEP-FDG dans le diagnostic des neurofibrosarcomes chez les patients NF1. Expérience du centre Neurofibromatose Rhône-Alpes Auvergne.**

### Auteurs :

Medhi Brahmi (1), Stéphane Pinson (2), Patrick Combemale (3), Philippe Thiesse (4), Dominique Rancher-Vince (5), Thomas Mognetti (6), Caroline Renard (7), Anne-Valerie Decouvelaere (7), Blay Jean-Yves (8)

1. Oncologie, Centre Léon Bérard, Lyon, France
2. Service de Génétique Clinique et Moléculaire / Centre Neurofibromatoses Rhône-Alpes Auvergne, Hopital Edouard Herriot - HCL, Lyon, France
3. Dermatologie / Centre Neurofibromatoses Rhône-Alpes Auvergne, Centre Léon Bérard, Lyon, France
4. Radio-Diagnostic / Centre Neurofibromatoses Rhône-Alpes Auvergne, Centre Léon Bérard, Lyon, France
5. Anatomico-pathologie / Centre Neurofibromatoses Rhône-Alpes Auvergne, Centre Léon Bérard, Lyon, France
6. Médecine nucléaire / Centre Neurofibromatoses Rhône-Alpes Auvergne, Centre Léon Bérard, Lyon, France
7. Anatomico-pathologie, Centre Léon Bérard, Lyon, France
8. Oncologie / Centre Neurofibromatoses Rhône-Alpes Auvergne, Centre Léon Bérard, Lyon, France

**Mots clefs :** neurofibrosarcome, NF1, TEP-FDG, neurofibromatose

### Résumé :

**Introduction :** Chez les patients porteurs d'une neurofibromatose de type 1 (NF1), la transformation maligne d'un neurofibrome (PNST) en un neurofibrosarcome (tumeur maligne des gaines des nerfs périphériques, MPNST), est un événement rare et grave, associé à un mauvais pronostic. L'intérêt de la TEP-FDG dans la détection des MPNST chez les patients NF1 a été rapporté dans plusieurs études. Cependant, au vu de l'impact pronostique de la survenue d'une MPNST, ainsi que des recommandations thérapeutiques (chirurgie d'exérèse large, parfois mutilante), un diagnostic histologique de certitude reste indispensable. L'objectif de cette étude est d'évaluer la performance des microbiopsies guidées par la TEP-FDG, dans le diagnostic de MPNST chez les patients NF1.

**Matériel et méthodes :** Il s'agit d'une étude monocentrique rétrospective conduite au Centre Léon Bérard (Lyon) entre octobre 2003 et décembre 2013. Une TEP-FDG était réalisée chez tous les patients NF1 avec suspicion clinique de MPNST. La TEP-FDG était en faveur d'une lésion suspecte si le ratio de captation de FDG tumeur/foie ( $SUV_{max}$  tumeur /  $SUV_{max}$  foie) était supérieur à 1,5. En cas de lésions suspectes, des microbiopsies étaient alors réalisées, suivies d'une chirurgie d'exérèse.

**Résultats :** 23 patients NF1, avec lésions suspectes à la TEP-FDG, ont été inclus dans cette étude. L'analyse histologique des tumeurs a mis en évidence 14 MPNST et 9 PNST. La chirurgie d'exérèse a pu être réalisée chez 17 patients, et l'analyse histologique de la pièce tumorale confirmait les résultats des microbiopsies. Concernant les cas où l'exérèse n'a pas été réalisée, nous disposons d'assez de recul de confirmer le caractère bénin ou malin de la lésion.

La valeur prédictive positive de la TEP-FDG était de 67%, et celle des microbiopsies guidées de 100%. Par ailleurs, aucune complication liée aux microbiopsies n'a été rapportée.

Les 9 PNST présentaient systématiquement des atypies nucléaires.

**Discussion :** Ces résultats confirment l'intérêt de la TEP-FDG dans la démarche diagnostique des MPNST chez les patients NF1, et montrent la nécessité d'un diagnostic histologique pour éliminer les faux-positifs.

**Conclusion :** La réalisation de microbiopsies guidées par la TEP-FDG est une stratégie performante, peu invasive et fiable dans le diagnostic de MPNST chez les patients NF1.

## ONCOGÉNÉTIQUE

### #3105 : Caractérisation d'une mutation d'épissage responsable de syndrome de Lynch et identification d'un nouveau transcrit alternatif du gène MSH2

#### Auteurs :

Catherine VERMAUT (1), Lucie Delattre (2), Anne Talleu (1), Nadine Parsy (1), Sophie Lejeune (3), Nelly Dewulf (3), Marie-Pierre Buisine (1), Julie Leclerc (1)

1. Oncologie et Génétique Moléculaire, CHU Lille, Lille, France

2. , , Lille, France

3. Génétique Clinique "Guy Fontaine", CHU Lille, Lille, France

**Mots clefs** : syndrome de Lynch, mutation d'épissage, ARN, transcrit alternatif

#### Résumé :

Nous rapportons le cas d'un patient de 32 ans qui a présenté un carcinome recto-sigmoïdien intramuqueux de phénotype MSI avec une perte d'expression des protéines MSH2 et MSH6. Le recueil de l'histoire familiale n'a pas relevé d'antécédents néoplasiques dans les branches paternelle et maternelle du patient, à l'exception d'un adénome colique en dysplasie de bas grade chez la mère à l'âge de 62 ans. L'analyse par séquençage haut débit (PCR multiplex AmpliSeq, Ion Torrent, Life Technologies) a permis de mettre en évidence chez le patient une mutation dans le site donneur d'épissage de l'exon 6 du gène **MSH2: c.1076+2T > A** (NM\_000251.2). Cette mutation n'a jamais été répertoriée dans les bases de données nationale (Base UMD du Réseau National des Laboratoires d'Oncogénétique Digestive) et internationales. Nous avons voulu déterminer les conséquences exactes de cette mutation en analysant les transcrits extraits de la lignée lymphoblastoïde établie à partir d'un prélèvement sanguin. Les résultats ont été comparés à ceux de patients témoins. En raison de la perte du site donneur d'épissage de l'exon 6, les prédictions bioinformatiques étaient en faveur d'une exclusion de l'exon 6. Cependant, aucune anomalie n'était visible après amplification du transcrit *MSH2* complet (*full length*). Des analyses complémentaires ont permis de déterminer que la mutation est responsable de l'activation d'un site donneur cryptique situé dans l'intron 6, 7766 nucléotides en aval du site naturel, ce qui se traduit par l'inclusion de plus de 7,7Kb de séquence intronique (r.[1076+1\_1077-5547ins;1076+2u > a]). La longueur de l'inclusion explique l'absence d'anomalie détectable après amplification par RT-PCR classique du transcrit *MSH2* complet. Cette mutation a pour conséquence un décalage du cadre de lecture et l'apparition d'un codon stop prématuré (p.Leu360Asnfs\*9), confirmant le caractère délétère. De manière intéressante, ce transcrit est également exprimé à partir de l'allèle sauvage, de façon minoritaire, et a pu être mis en évidence chez les patients témoins. Pourtant, il n'a jamais été décrit auparavant comme transcrit alternatif (1). Enfin, la mutation n'a pas été retrouvée chez les parents du patient, ni dans l'ADN extrait de l'adénome de la mère, ce qui est en faveur d'une mutation *de novo* chez le cas index. En conclusion, cette étude souligne l'importance de confirmer sur l'ARN des patients les conséquences des mutations d'épissage, qui représentent près d'un tiers des mutations des gènes MMR. Des précautions doivent néanmoins être respectées afin d'éviter des erreurs d'interprétation de ces analyses (2).

(1) Thompson BA *et al.*, A Review of mismatch repair gene transcripts: issues for interpretation of mRNA splicing assays. *Clin Genet* 2015; 87: 100–108.

(2) Houdayer C. pour les groupes épissage Unicancer et ANPGM. Conduite de l'étude des ARN messagers pour évaluer l'impact qualitatif d'un variant de signification inconnue sur l'épissage. 26/06/2013

## ONCOGÉNÉTIQUE

### #3121 : Etude du gène MYH responsable de la polypose adénomateuse familiale en Tunisie

#### Auteurs :

Ameni Kdissa (1), Moez Gribaa (2)

1. Laboratoire de Cytogénétique, de Génétique moléculaire et de Biologie de la Reproduction Humaines., CHU Farhat Hached Sousse Tunisie, Sousse, Tunisie

2. Laboratoire de Cytogénétique, de Génétique moléculaire et de Biologie de la Reproduction Humaines., CHU Farhat Hached Sousse Tunisie, Sousse, France

**Mots clefs** : gène MYH, Séquençage, polypose adénomateuse familiale

#### Résumé :

##### Introduction :

La polypose adénomateuse associée au gène *MYH* (PAM) est la seule pathologie prédisposant aux CCR de transmission autosomique récessive.

Les patients présentant une polypose associée au gène *MYH* développent un syndrome qui ressemble à la polypose adénomateuse familiale associée au gène APC mais de façon atténuée, avec généralement un âge plus tardif et un nombre inférieur de polypes.

Il existe plusieurs mutations touchant le gène *MYH*. Notre étude s'est focalisée sur la recherche de la mutation **c.868\_869insGG (p.Glu290Gly)** décrite comme étant la plus fréquente dans la population Nord-Africaine.

##### Patients et méthodes :

Notre étude a été réalisée sur 40 patients tunisiens suspects cliniquement, biologiquement et endoscopiquement d'être atteints par la polypose adénomateuse familiale.

Dans un premier lieu, nous avons mis au point les conditions optimales nécessaires à l'amplification et le séquençage direct de l'exon 13 du gène *MYH* contenant la mutation **c.868\_869insGG (p.Glu290Gly)**.

##### Résultat :

Parmi les 40 patients, 6 patients étaient homozygotes pour la mutation **c.868\_869insGG (p.Glu290Gly)** et 2 étaient hétérozygotes.

##### Conclusion :

La polypose adénomateuse associée au gène *MYH* est favorisée par la consanguinité. Celle-ci est fréquemment observée dans la population tunisienne, expliquant l'importance de cette pathologie. La mutation p.Glu290Gly serait originaire d'un ancêtre commun réalisant un effet fondateur très ancien à l'origine de sa large répartition dans les pays du Maghreb.

## ONCOGÉNÉTIQUE

### #3148 : Détection de mutations constitutionnelles du gène *HID-1* chez des patients présentant un médulloblastome

#### Auteurs :

Pierre Fermey (1), Sabine Raad (1), Ophélie Carmon (2), Gaëlle Bougeard (1), Françoise Charbonnier (1), Sophie Coutant (1), Myriam Vezain (1), Youssef Anouar (2), Maité Montero-Hadjadje (2), Thierry Frébourg (1), Isabelle Tournier (1)

1. Inserm U1079-IRIB et Service de Génétique - Centre Normand de Génomique Médicale et Médecine Personnalisée, Inserm, Université de Rouen et CHU de Rouen, Rouen, France
2. Inserm U982-DC2N-IRIB, Inserm et Université de Rouen, Mont-Saint-Aignan, France

**Mots clefs :** Exome, médulloblastome, *HID-1*, NGS, sécrétion régulée, *MYO7A*

#### Résumé :

Dans le but d'identifier de nouvelles bases moléculaires aux tumeurs cérébrales pédiatriques, nous avons appliqué la stratégie d'analyse exomique différentielle de trios enfant malade / parents indemnes à des patients ayant développé des tumeurs précoces multiples, de présentation sporadique, et sans mutation constitutionnelle des gènes de prédisposition connus. Nous avons étudié un patient ayant développé deux tumeurs cérébrales (médulloblastome à 8 ans et méningiome à 22 ans) sans antécédent familial évocateur d'une prédisposition Mendélienne. Ce patient présente une perte auditive progressive bilatérale mise sur le compte de l'irradiation. Nous avons réalisé le séquençage exomique de ce jeune patient et de ses deux parents indemnes de cancer. Parmi les 20 009 variants identifiés chez le cas index, nous avons identifié 2 variations *de novo* non-synonymes à l'état hétérozygote. La première, prédite délétère, touche le gène *MYO7A* impliqué dans des formes autosomiques dominantes (*DFNA11*) et récessives (*DFNB2* et *USH1B*) de perte de l'audition et explique probablement la surdité observée chez le patient. La seconde variation est une mutation faux-sens du gène *HID-1* (*High-temperature-Induced Dauer formation*), anciennement dénommé *DMC1* pour « *Down-regulated in many cancers* », codant la protéine *HID-1*, fortement exprimée dans le cerveau, en particulier dans les cellules neuronales et sécrétrices. Cette variation, prédite délétère, touche un acide aminé très conservé de la protéine *HID-1*. L'expression de *HID-1* est très fortement diminuée dans de multiples lignées cancéreuses. *HID-1*, localisée au niveau du trans-golgi, serait impliquée dans la sécrétion des neuropeptides et, en particulier, dans le tri des vésicules néoformées. Certains médulloblastomes se développant à partir de précurseurs des neurones à grain du cervelet, cellules fortement sécrétrices, l'identification d'une mutation *de novo* de *HID-1* chez un enfant présentant un médulloblastome pose la question de l'implication causale de cette mutation. Nous avons donc entrepris une étude de récurrence dans une cohorte de 32 patients avec médulloblastome et/ou méningiome et avons mis en évidence une seconde mutation faux-sens de *HID-1* non répertoriée et prédite délétère. Nous avons dans un premier temps étudié l'impact de ces deux variants sur l'expression et sur la localisation de la protéine. Ces deux variations ne semblent pas impacter les niveaux d'expression ni la localisation de *HID-1*. Nous évaluons actuellement l'impact de ces variations sur la sécrétion des vésicules à cœur dense dans un modèle cellulaire de surexpression en comparant la sécrétion relative des cellules transfectées avec *HID-1* mutant à celle mesurée pour les cellules transfectées avec *HID-1* sauvage. Ce travail devrait nous permettre de savoir si les mutations détectées correspondent à des variants rares voire privés sans impact biologique ou si ces mutations sont impliquées dans la genèse du médulloblastome.

## ONCOGÉNÉTIQUE

### #3162 : Etude Mutationnelle du gène ASXL1 dans les hémopathies malignes familiales

#### Auteurs :

Walid Sabri HAMADOU (1), Sawsen Besbes (2), Rym El Abed (1), Violaine Bourdon (3), Yosra Ben Youssef (4), Mohamed Adnène Laatiri (5), Abderrahim Khélif (4), Testuro Noguchi (3), Hagay Sobol (3), zohra Soua (6)

1. UR 14E19. Laboratoire de Biochimie, , Faculté de Médecine de Sousse. Université de Sousse - Tunisie , Sousse, Tunisie
2. UR 14E19. Laboratoire de Biochimie, , Faculté de Médecine de Sousse. Université de Sousse - Tunisie , Sousse, Trinité-et-Tobago
3. Département d'Oncologie Génétique, de Prévention et Dépistage, Institut Paoli-Calmettes, Marseille - France, Marseille, France
4. Service d'Hématologie clinique, CHU Farhat Hached, Sousse - Tunisie, Sousse, Tunisie
5. Service d'Hématologie clinique. , CHU Fattouma Bourguiba, Monastir - Tunisie, Sousse, Tunisie
6. UR 14E19. Laboratoire de Biochimie, , Faculté de Médecine de Sousse. Université de Sousse - Tunisie , Sousse, France

**Mots clefs :** hémopathies malignes familiales , mutations, gène ASXL1

#### Résumé :

Plusieurs gènes associés aux hémopathies malignes familiales ont été décrit, mais les bases génétiques de ces agrégations restent encore mal connues due à leur faible occurrence. Nous avons déjà décrit deux nouveaux variants touchant les gènes PRF1 et CEBPA qui peuvent constituer un facteur de risque dans les hémopathies malignes familiales. Nous ciblons d'autres gènes tel que *ASXL1*(additional sex combs-like 1) qui est exprimé dans la plupart des cellules hématopoïétiques et impliqué dans l'étiologies des hémopathies malignes, ainsi que les défauts de développement et de retard mental dans le syndrome de Bohring Optiz.

Afin de déterminer l'implication du gène *ASXL1* dans les agrégations familiales, nous avons recherché par séquençage direct des mutations germinales dans 88 familles tunisiennes et françaises présentant diverse formes d'hémopathies malignes et 21 cas de leucémies aigües sporadiques tunisiennes.

Nous avons rapporté deux variants : une substitution faux sens Glu477Gln trouvée dans une LAL sporadique et une substitution faux sens : Arg402Gln, non décrite dans la littérature. Ce nouveau variant est identifié chez deux sœurs diagnostiquées avec un lymphome hodgkinien B . L'analyse *in silico* a prédit un effet délétère potentiel sur la protéine *ASXL1*. Ce variant n'a pas été retrouvé dans 200 chromosomes témoins.

La contribution du gène *ASXL1* à une prédisposition héréditaire des hémopathies malignes familial devrait être prise en compte dans l'ensemble des gènes analysés dans ce contexte. La mise au point d'un test fonctionnel validerait le statut mutationnel de ce nouveau variant *ASXL1*.

## ONCOGÉNÉTIQUE

### #3193 : Recherche de mutations somatiques des gènes MMR chez des patients suspectés de syndrome de Lynch sans mutation constitutionnelle identifiée

#### Auteurs :

Julie LECLERC (1), Catherine VERMAUT (2), Tonio LOVECCHIO (2), Michel CREPIN (2), Denis BOIDIN (2), Nora BOUCETTA (2), François VANDERCRUYCE (2), Sophie LEJEUNE (3), Stéphane CATTAN (3), Nelly PASZ (3), Virginie NICOLAS (3), Sylvie MANOUVRIER (4), Nicole PORCHET (1), Marie-Pierre BUISINE (1)

1. Oncologie et Génétique Moléculaires, Institut de Biochimie et Biologie Moléculaire, et Univ. Lille, Inserm, UMR-S 1172 - JPArc - Centre de Recherche Jean-Pierre AUBERT Neurosciences et Cancer, , CHU Lille, Lille, France
2. Oncologie et Génétique Moléculaires, Institut de Biochimie et Biologie Moléculaire, CHU Lille, Lille, France
3. Génétique Clinique, CHU Lille, Lille, France
4. Génétique Clinique, et Univ. Lille, EA 7364 - RADEME - Maladies RAres du Développement et du Métabolisme : du phénotype au génotype et à la Fonction,, CHU Lille, Lille, France

**Mots clefs :** syndrome de Lynch, mutations somatiques, séquençage de deuxième génération

#### Résumé :

La prise en charge diagnostique des patients présentant une tumeur avec instabilité microsatellitaire (phénotype MSI) et suspectés de syndrome de Lynch est bien établie. Après avoir exclu une tumeur sporadique liée à une hyperméthylation biallélique somatique du promoteur du gène *MLH1* quand la perte d'expression touche la protéine MLH1, une recherche de mutation constitutionnelle des gènes MMR est proposée au patient lors d'une consultation d'oncogénétique. Dans certains cas, aucune altération des gènes MMR n'est identifiée malgré une analyse exhaustive (recherche de mutation ponctuelle, de grand réarrangement, et d'épimutation constitutionnelle pour le gène *MLH1*), mais le patient bénéficie d'une surveillance clinique de type syndrome de Lynch car la présence d'une anomalie d'un gène MMR non détectable par les techniques conventionnelles ne peut être totalement exclue. Il a néanmoins été démontré que, pour certains de ces patients, le phénotype tumoral observé est le reflet de deux événements somatiques responsables de l'inactivation biallélique d'un gène MMR, éliminant ainsi le diagnostic de syndrome de Lynch. Il est donc important de pouvoir rechercher ces mutations somatiques afin d'optimiser la prise en charge clinique des patients, ainsi que le conseil génétique pour leurs apparentés.

**Nous présentons ici les résultats des analyses somatiques des gènes MMR et du gène *MUTYH* réalisées dans notre laboratoire par séquençage de deuxième génération** (technologie AmpliSeq, ThermoFisher Scientific). Douze patients pour lesquels aucune altération des gènes MMR n'avait été mise en évidence malgré une tumeur de phénotype MSI ont été étudiés : 5 patients présentant une perte d'expression de MLH1 et/ou PMS2 sans hyperméthylation somatique du promoteur de *MLH1*, 6 patients présentant une perte d'expression de MSH2 et/ou MSH6 et 1 patient présentant une perte apparente des 4 protéines. Deux patients décédés pour lesquels les analyses constitutionnelles n'avaient pas pu être réalisées, ce qui empêchait tout test prédictif chez les apparentés, ont également été étudiés. Les analyses ont permis d'identifier 14 mutations somatiques des gènes MMR, délétères ou potentiellement délétères (effet prédit sur l'épissage) sur un total de 9 patients. Certains résultats étaient inattendus, comme l'identification d'une inactivation conjointe des gènes *MLH1* et *MUTYH* dans une tumeur avec perte d'expression de la protéine MLH1. Pour 5 patients, les résultats n'étaient pas concluants. Les difficultés d'interprétation liées à l'analyse sur tissus tumoraux seront également discutées.

## ONCOGÉNÉTIQUE

### #3223 : Analyse chromosomique sur puces à ADN sur tissu fixé : exemple des tumeurs hypophysaires

#### Auteurs :

Eudeline ALIX (1), Clément BONNEFILLE (1), Jessica MICHEL (1), Nicolas CHATRON (2), Claire BARDEL (3), Mad-Hélène ELSENSOHN (4), Jacqueline TROUILLAS (5), Pascal ROY (3), Emmanuel JOUANNEAU (6), Alexandre VASILJEVIC (7), Damien SANLAVILLE (2), Gérald RAVEROT (8)

1. Laboratoire de Cytogénétique Constitutionnelle, HCL, LYON, France
2. Laboratoire de Cytogénétique Constitutionnelle, HCL, Equipe TIGER, CRNL, UCBL1, U1028 INSERM, UMR 5292 CNRS, LYON, France
3. Service de Biostatistique, HCL, CNRS, UMR5558, Laboratoire de Biométrie et Biologie Evolutive, Equipe Biostatistique-Santé, Université Lyon 1, Villeurbanne, LYON, France
4. Service de Biostatistique, HCL, LYON, France
5. Centre de Pathologie Est, HCL, Équipe neuro-oncologie et neuro-inflammation, INSERM U1028, CNRS UMR5292, CRNL, UCBL1, LYON, France
6. Service de neurochirurgie,, HCL, LYON, France
7. Centre de Pathologie Est,, HCL, LYON, France
8. Fédération d'Endocrinologie du Pôle Est, HCL,, Équipe neuro-oncologie et neuro-inflammation, INSERM U1028, CNRS UMR5292, CRNL, UCBL1, LYON, France

**Mots clefs :** Tumeurs hypophysaires, ACPA, CNV, fixateur, Bouin-Hollande, formol-zinc

#### Résumé :

Les tumeurs hypophysaires, parmi les plus fréquentes des tumeurs intracrâniennes, sont généralement considérées comme bénignes. Cependant, 35-40% d'entre-elles sont invasives et 15%, dites agressives, sont résistantes aux traitements médicaux et/ou récidivantes. Des variations du nombre de copies (CNV), en particulier des délétions du chromosome 11, ont été identifiées dans des tumeurs à prolactine agressives ou malignes par analyse chromosomique sur puces à ADN (ACPA), sur prélèvements congelés. Les tumeurs hypophysaires, le plus souvent de petite taille, ne sont pas systématiquement congelées, les fragments étant fixés, en priorité, pour l'établissement du diagnostic histologique. Des études ont montré la faisabilité de l'ACPA sur prélèvements fixés au formol tamponné, mais il existe peu de données pour les autres types de fixateurs. Nous avons réalisé une étude comparative de faisabilité de l'ACPA sur 10 tumeurs hypophysaires cryoconservées et fixées avec 3 fixateurs différents : le Bouin-Hollande, contenant du cuivre, (n=4), le formol-zinc (n=4) et le formol-acétique (n=2). Nous avons marqué les ADN issus de prélèvements congelés avec le kit SureTag DNA labelling et les ADN issus de prélèvements fixés avec le kit ULS labelling. L'hybridation a été réalisée sur lame Agilent CGH 180k. Les données ont été analysées avec le logiciel Cytogenomics d'Agilent. La qualité des résultats des prélèvements fixés au Bouin-Hollande ou au formol-zinc (DLRS entre 0.43 et 0.71) permet la comparaison avec les résultats des prélèvements congelés de DLRS inférieur à 0.22. En revanche, les résultats obtenus après fixation au formol-acétique, avec un DLRS supérieur à 0.76, sont difficilement analysables. Cinq tumeurs sur les 8 étudiées présentent des gains de chromosomes entiers retrouvés avec les 2 méthodes de conservation, quelque soit le DLRS. Dans une de ces tumeurs, des pertes de chromosomes entiers ne sont pas retrouvées dans les fragments fixés au Bouin-Hollande, malgré un DLRS correct. Cela s'explique par une sous-estimation observée du log ratio lors la fixation au Bouin-Hollande par rapport à celui obtenu après cryoconservation. Les anomalies de bras entiers, toutes détectées pour les tumeurs fixées à DLRS inférieur à 0.50, peuvent ne pas être retrouvées dans les prélèvements fixés, avec un DLRS élevé et dans un contexte de remaniement complexe. Les gains et les délétions interstitiels de petite taille ne sont pas détectés quelques soit leurs valeurs de log ratio alors que des anomalies interstitielles de plusieurs dizaines de Mégabases sont détectables, si le DLRS est inférieur à 0.50. Cette étude prouve ainsi la faisabilité des analyses d'ACPA sur prélèvements fixés au Bouin Hollande et au formol-zinc mais pas en formol-acétique. L'interprétation est cependant dépendante de la taille des CNVs et de la complexité génomique de la tumeur.

## ONCOGÉNÉTIQUE

### #3247 : CDKN2A, PDGFRA et prédisposition au sarcome

#### Auteurs :

Fanélie Jouenne (1), Olivier Caron (2), Vincent Caumette (1), Olivier Ingster (3), Marie-Françoise Avril (4), Patrick Benusiglio (2), Isabelle Coupier (5), Philippe Terrier (6), Rosine Guimbaud (7), Capucine Delnatte (8), Arnaud De la Fouchardière (9), Daniel Pissaloux (9), Gaëlle Bougeard-Denoyelle (10), Thierry Frebourg (11), Axel Lecesne (12), Isaure Chauvot de Beauchêne (13), Luba Tchertanov (14), Jean-Baptiste Demoulin (15), Nabila Bouatia-Naji (16), Florence Demenais (17), Alexander Eggermont (18), Jean Feunteun (19), Brigitte Bressac- de Paillerets (1)

1. Génétique, Gustave Roussy, Villejuif, France
2. Oncogénétique, Gustave Roussy, Villejuif, France
3. Génétique médicale, CHU d'Angers, Angers, France
4. Dermatologie et oncodermatologie, CHU Paris Centre - Hôpital Cochin, Paris, France
5. Génétique médicale et chromosomique, CHRU de Montpellier, Montpellier, France
6. Pathologie et Cytopathologie, Gustave Roussy, Villejuif, France
7. Oncologie médicale, CHU de Toulouse - Hôpital Rangueil, Toulouse, France
8. Laboratoire de génétique moléculaire, CHU de Nantes - Institut de Biologie, Nantes, France
9. Biopathologie, Centre Léon Bérard, Lyon, France
10. Inserm U1079 - laboratoire Génétique Moléculaire, Faculté de médecine et de pharmacie de Rouen, Rouen, France
11. Génétique, Faculté de médecine et de pharmacie de Rouen, Rouen, France
12. Oncologie Médicale, Gustave Roussy, Villejuif, France
13. Département de physique, Université technique de Munich, Munich, Allemagne
14. Centre de mathématiques et de leurs applications, ENS Cachan, Cachan, France
15. , Université catholique de Louvain - UCL, Bruxelles, Belgique
16. UMR970 Team 3, Paris Cardiovascular research Centre (PARCC) Inserm , Paris, France
17. Variabilité génétique et maladies humaines- UMR 946, Institut de génétique Moléculaire, Paris, France
18. Directeur général, Gustave Roussy, Villejuif, France
19. Laboratoire d'Oncologie Moleculaire, Gustave Roussy, Villejuif, France

**Mots clefs :** prédisposition génétique, agrégation familiale, cancer rare, sarcome, séquençage d'exomes, CDKN2A, PDGFRA

#### Résumé :

Les sarcomes représentent un groupe complexe de tumeurs malignes rares dérivées de cellules mésenchymateuses, affectant les os ou les tissus mous (STS) et incluant plus de 50 sous-types histologiques différents. Les sarcomes sont très fréquents dans le syndrome de Li-Fraumeni (*TP53*); le risque de développer un sarcome est augmenté par les radiations ionisantes et certains produits chimiques, mais pour la plupart des sarcomes, l'étiologie reste inconnue.

Nous avons identifié une agrégation familiale de 3 STS sans mutation du gène *TP53*. Le séquençage d'exome constitutionnel de 2 des 3 patients (Integragen) a permis d'identifier une mutation d'un site d'épissage de l'exon 2 (c.151-2A > G) du gène *CDKN2A* prédisposant au mélanome. L'exon 2 étant commun aux protéines p16<sup>INK4A</sup> et p14<sup>ARF</sup>, l'analyse des ARNm a mis en évidence un saut d'exon dans les deux transcrits. Une analyse somatique ciblée sur la mutation c.151-2A > G a montré la présence de cette mutation dans la tumeur fixée du 3<sup>ème</sup> patient, ainsi qu'une perte d'hétérozygotie dans 2/3 sarcomes.

Nous avons fait l'hypothèse que le gène *CDKN2A* pourrait être un gène de prédisposition au sarcome, en association avec un autre gène. Parmi une collection de 300 familles à cas multiples de mélanome présentant une mutation constitutionnelle de *CDKN2A*, 4 cas de sarcomes chez des porteurs d'une mutation de *CDKN2A* ont été identifiés ainsi que 2 autres cas du consortium international GenoMel; un séquençage d'exome constitutionnel a été réalisé pour ces 6 patients (Integragen).

Les données des 8 exomes ont été analysées à l'aide du logiciel IVA<sup>TM</sup> avec les filtres suivants: qualité, fréquence, prédiction délétère, biologie du sarcome. Quatre variants faux sens localisés dans le domaine extracellulaire du gène *PDGFRA* ont été identifiés: p.Leu112Arg (communs aux 3 STS de la famille initiale) et p.Asn76Ser, tous deux inconnus des bases de données dbSNP et ESP; p.Thr463Ser et p.Ser478Pro ayant une fréquence allélique de 0.02% et 10,26%, respectivement dans ESP (Eur-Am.). Ces variants ont été vérifiés par séquençage de Sanger. Une analyse de 5/8 sarcomes par CGH a montré un gain somatique du locus de *PDGFRA* chez les 2 patients porteurs du variant fréquent p.Ser478Pro. Des séquençages de Sanger des gènes *CDKN2A* et *PDGFRA* d'une nouvelle série de 180 sarcomes (avec ou sans mutation du gène *TP53*) et du gène

*PDGFRA* pour les 300 cas index portant une mutation de *CDKN2A*, sont en cours. L'ensemble des données sera analysé avec des tests statistiques d'association pour variants rares, de type SKAT. Enfin, des analyses fonctionnelles et de modélisation biomathématique tridimensionnelle sont en cours pour déterminer l'impact de ces 4 variants.

Ces résultats préliminaires suggèrent que: (i) *CDKN2A* et *PDGFRA* sont des gènes candidats de prédisposition au sarcome; (ii) le séquençage d'exomes d'un petit nombre d'individus atteints d'un cancer rare est une stratégie prometteuse pour identifier de nouveaux gènes de prédisposition.

## ONCOGÉNÉTIQUE

**#3248 : Etude de COségrégation familiale des VARIants nucléotidiques dans les gènes BRCA1/2 pour valider leur utilisation en conseil génétique.**

### Auteurs :

Sandrine CAPUTO (1), Francesca Damiola (2), Mélanie Leone (3), Laurent Castera (4), Audrey Remenieras (5), Françoise Revillion (6), Marine GUILLAUD-BATAILLE (7), Etienne Rouleau (1), Lisa Golmard (1), Violaine Bourdon (5), Nadia Boutry-Kryza (3), UGC Sous-groupe des laboratoires du Groupe Génétique e (8), Christine Lasset (9), Olivier Caron (10), Olga SININILKOVA (11), Rosette Lidereau (1), Dominique Stoppa-Lyonnet (1)

1. Génétique, Institut Curie, Paris, France
2. , Centre Léon Bérard, Lyon, France
3. Unité Mixte de Génétique Constitutionnelle des Cancers Fréquents, Hospices Civils de Lyon - Centre Léon Bérard, Lyon, France
4. Laboratoire de biologie et de génétique du cancer et INSERM 1079 Centre Normand de Génomique et de Médecine Personnalisée, CLCC François Baclesse, Caen, France
5. , Institut Paoli Calmettes, Marseille, France
6. , Centre Oscar Lambret, Lille, France
7. , Institut Gustave Roussy, Villejuif, France
8. , Unicancer, Paris, France
9. Département de santé publique , Centre Léon Bérard, Lyon, France
10. Consultations d'oncogénétique et du comité de Génétique , Institut Gustave Roussy, Villejuif, France
11. Unité Mixte de Génétique Constitutionnelle des Cancers Fréquents, Hospices Civils de Lyon - Centre Léon Bérard, Paris, France

**Mots clefs :** BRCA1, BRCA2, variant, co-segregation

### Résumé :

Les gènes *BRCA1* et *BRCA2* sont les deux gènes majeurs de prédisposition aux cancers du sein et/ou de l'ovaire. Les mutations constitutionnelles affectant ces gènes sont des mutations inactivatrices qui augmentent de façon significative le risque de développer un cancer. La mise en évidence d'une mutation causale à partir d'un cas index (patient atteint d'un cancer le plus susceptible d'être porteur d'une mutation familiale et qui fait l'objet d'une analyse complète des deux gènes) permet au généticien de proposer une prise en charge adaptée à tous les membres de la famille selon que les apparentés sont porteurs ou non de la mutation causale. En 2010, une mutation causale, utilisable pour le conseil génétique est mise en évidence dans ~ 13% des cas index testés. Des Variants nucléotidiques de Signification Inconnue (VSI) sont mis en évidence chez plus de 20% des patients testés. Pour ces familles, des tests génétiques ne peuvent pas être proposés aux apparentés et le conseil génétique est orienté par l'histoire familiale

La base de données nationale de mutations UMD-BRCA1/2, labellisée par l'INCa, permet le recueil anonyme des résultats des tests cas index des 16 laboratoires français réalisant ces tests. En octobre 2015, UMD-BRCA1/2 regroupe ~8700 familles pour *BRCA1* et ~10000 familles pour *BRCA2* avec 1731 VSI dont 1003 différents pour *BRCA1* dans 1657 familles et 3523 VSI dont 1714 différents pour *BRCA2* dans 3256 familles. Un des arguments essentiel et quantifiable pour le classement des VSI est leur co-ségrégation familiale avec la maladie (apparentés atteints de cancer du sein ou de l'ovaire, porteurs du VSI et apparentés indemnes de cancer non porteurs du VSI). Outre les données de co-ségrégation du VSI avec la maladie, sont pris en compte l'histoire familiale, les caractéristiques tumorales et la co-occurrence rapportée ou non du VSI avec une mutation causale du même. Les estimations de probabilité que le VSI soit causal sont calculées à partir des arbres généalogiques en utilisant un modèle statistique selon Thompson

Le but du protocole de recherche COVAR est d'organiser des études de co-ségrégation pour les VSI de la base UMD-BRCA1/2, sélectionnés selon plusieurs critères. Actuellement, nous avons sélectionné 250 VSI pour l'étude COVAR. Depuis le début de l'étude, nous avons inclus plus de 500 individus appartenant à 200 familles à travers la France. Nous avons pu calculer, à l'aide des informations de co-ségrégation, les premiers scores de causalité et classé ainsi 9 variants en causal ou probablement causal. Par conséquent, ~50 familles ont pu être prises en charge à la suite de ce classement

En parallèle de ce protocole, le groupe de travail de classification revoit les variants de la base de données avec les connaissances actuelles. Dans ce cadre, 490 variants ont été classés en neutre/probablement neutre ou causal sur des données de la littérature, des fréquences de population ou encore de récents résultats d'épissage.

## ONCOGÉNÉTIQUE

### #3272 : Importance de la multidisciplinarité dans l'approche diagnostique par panel de gènes en génétique

#### Auteurs :

Agnès Collet (1), Henrique Tenreiro (1), Elodie Girard (2), Vivien Deshaies (2), Anthony Laugé (1), Alban Lermine (3), Dehainault Catherine (1), Dubois D'Enghien Catherine (1), Christelle Berthemmin (1), Jennifer Carrière (1), Christophe Guy (1), Khadija Abidallah (1), Cédric Lefol (1), Virginie Moncoutier (1), Quentin Nicolas (1), Julien Tarabeux (1), Nicolas Viellard (1), Antoine De Pauw (1), Ophélie Bertrand (4), Anne-Marie Birot (4), Camille Elan (1), Nicolas Servant (2), Emmanuel Barillot (2), Claire Saule (4), Marion Gauthier-Villars (1), Bruno Buecher (1), Emmanuelle Fourme (4), Alice Fievet (1), Lisa Golmard (1), Rouleau Etienne (1), Catherine Noguès (4), Dominique Stoppa-Lyonnet (5), Claude Houdayer (5)

1. Service de Génétique, Institut Curie, Paris, France
2. Plateforme de Bioinformatique, INSERM U900, Institut Curie, Paris, France
3. Plateforme de Bioinformatique, INSERM U900, Institut Curie, , France
4. Oncogénétique, Institut Curie, Saint-Cloud, France
5. Service de Génétique, Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, INSERM U830, Institut Curie, Paris, France

**Mots clefs** : panel de gènes, oncogénétique, séquençage haut-débit, multidisciplinarité

#### Résumé :

L'évolution des technologies de séquençage haut débit permet désormais de passer d'une stratégie d'analyse « gène par gène » à l'analyse simultanée d'un panel de gènes pour chaque patient. L'analyse par panel en oncogénétique a été mise en place au sein du laboratoire de Génétique Constitutionnelle de l'Institut Curie en 2015 et a profondément modifié les pratiques des biologistes et cliniciens.

Un panel à façon explorant les séquences codantes et les jonctions « exons-introns » de nos 61 gènes d'intérêt a été mis au point (gènes analysés en routine diagnostique ou appartenant au domaine de la recherche). Chaque patient est séquençé pour ces 61 gènes mais la disponibilité des résultats est conditionnée par l'indication clinique. La méthodologie utilisée est une capture SureSelectQXT (Agilent) et un séquençage par NextSeq (Illumina). Les données générées sont analysées à l'aide d'un pipeline bioinformatique élaboré par nos soins à partir d'outils académiques. Elles sont alignées sur le génome de référence avec Bowtie2. Les variants de petite taille sont détectés et annotés par VarScan2 et AnnotVar. Les variants de taille intermédiaires (> 15bp) et les réarrangements de grande taille sont respectivement caractérisés par Pindel et DeSeq.

Concernant les études diagnostiques, nous avons retenu un groupe de 17 gènes dits « actionnables » : gènes connus comme prédisposant à différents types de cancers et pour lesquels il existe un conseil génétique et une prise en charge adaptés en cas de mutation (*BRCA1*, *BRCA2*, *CDH1*, *APC*, *MUTYH*, *STK11*, *PTEN*, *SMAD4*, *BMP1A*, *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *PMS2*, *EPCAM*, *POLE*, *POLD1*, *PALB2*). L'analyse de ces gènes est proposée en diagnostic mais elle est organisée en « sous-panels » orientés par le contexte clinique. Concernant les gènes du domaine de la recherche, les séquences sont anonymisées et stockées de manière sécurisée. Elles ne sont ni interprétées, ni accessibles en dehors d'un cadre spécifique de recherche.

Après validation de cette méthode, plus de 1000 patients ont ainsi été analysés à ce jour.

L'analyse en panel de gènes à l'Institut Curie nécessite des compétences transdisciplinaires solides et des ressources humaines non volatiles. Elle requiert également d'importantes capacités d'analyse et de stockage des données. Nous avons constaté à quel point il est essentiel qu'un biologiste médical soit en mesure de maîtriser chaque paramètre d'analyse afin de garder un esprit critique sur les données produites dont l'interprétation est un défi majeur. L'implication de l'ensemble des collaborateurs (techniciens, biologistes, cliniciens et bioinformaticiens) a abouti à une organisation modulable et raisonnable qui permet de répondre au mieux aux attentes des prescripteurs en même temps qu'au désir des patients de « savoir », ou non, ce que l'approche multigènes rend désormais techniquement possible.

## ONCOGÉNÉTIQUE

### #3286 : Recherche de nouveaux gènes de prédisposition au cancer du rein familial

#### Auteurs :

Sophie Gad (1), Florine Adolphe (2), Sophie Couvé (1), Sophie Deveaux (3), Betty Gardie (4), Charles-Henry Gattolliat (1), Sophie Ferlicot (5), Virginie Verkarre (6), Laurence Albiges (7), Bernard Escudier (8), Nathalie Droin (9), Marc Deloger (10), Sébastien Forget (11), Patrick Benusiglio (12), Isabelle Coupier (13), Sophie Giraud (14), Brigitte Bressac-de Paillerets (11), Stéphane Richard (15)

1. Laboratoire Génétique Oncologique EPHE et INSERM U1186, Gustave Roussy Cancer Campus, Villejuif, France
2. INSERM U1186, Gustave Roussy Cancer Campus, Villejuif, France
3. Réseau National pour Cancers Rares de l'adulte PREDIR, AP-HP/INCa, Service d'Urologie, Hôpital de Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France
4. Laboratoire Génétique Oncologique EPHE et UMR Inserm U892 / CNRS 6299, Institut de Recherche Thérapeutique, CRCNA, Nantes, France
5. Service d'Anatomie Pathologique, Hôpital de Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France
6. Service d'Anatomie Pathologique, Necker-Enfants-Malades et Hôpital Européen Georges-Pompidou, Paris, France
7. Département de Médecine Oncologique, Consultation des tumeurs rénales, Gustave Roussy Cancer Campus, Villejuif, France
8. , , Villejuif, France
9. Plateforme de Génomique, Gustave Roussy Cancer Campus, Villejuif, France
10. Plateforme de Bioinformatique, Gustave Roussy Cancer Campus, Villejuif, France
11. Département de Biopathologie, Service de Génétique, Gustave Roussy Cancer Campus, Villejuif, France
12. Département de Médecine Oncologique, Consultation d'Oncogénétique, Gustave Roussy Cancer Campus, Villejuif, France
13. Service de Génétique Médicale, Unité d'Oncogénétique, CHU de Montpellier, Montpellier, France
14. Service de Génétique, Hôpital E. Herriot, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
15. Laboratoire Génétique Oncologique EPHE et INSERM U1186, et Réseau National pour Cancers Rares de l'adulte PREDIR, AP-HP/INCa, Hôpital de Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France

**Mots clefs :** cancer du rein familial, gènes de prédisposition, séquençage d'exome

#### Résumé :

Le cancer du rein représente 3% des cancers de l'adulte. En France 11.000 nouveaux patients sont diagnostiqués chaque année. Près de 30% des patients ont des métastases lors du diagnostic et le cancer du rein est responsable de 4.000 décès par an en France. La majorité des cancers du rein est d'origine sporadique. Le tabac, l'obésité, l'hypertension artérielle et certaines expositions professionnelles représentent les principaux facteurs de risque connus. Les prédispositions héréditaires sont estimées à 3% de l'ensemble des cancers du rein mais sont d'un intérêt capital tant au plan clinique que fondamental.

Les formes familiales de cancers rénaux se transmettent selon le mode autosomique dominant. Il existe une dizaine de gènes de prédisposition au cancer du rein parmi lesquels *VHL*, *FLCN*, *FH* et *MET*. Ces 4 gènes sont retrouvés mutés chez les patients atteints de diverses maladies génétiques (von Hippel-Lindau, Birt-Hogg-Dubé, Léiomyomatose, etc) qui les prédisposent à développer également des manifestations extra-rénales. Globalement, les protéines codées par ces 4 gènes majeurs interviennent dans la voie de réponse à l'hypoxie via le facteur de transcription HIF impliqué dans de nombreux processus cellulaires, et la voie de prolifération mTOR. Une soixantaine de familles en France avec cancer rénal sans mutation germinale identifiée sont recensées dans la base de données du Centre de Référence du Réseau National pour Cancers Rares de l'adulte PREDIR. Afin de rechercher de nouveaux gènes de prédisposition aux cancers du rein, nous avons sélectionné 12 familles présentant au moins 2 cas de cancers du rein liés au premier degré dont un diagnostiqué avant 50 ans, et pour lesquelles le proposant ne présentait pas de mutation germinale dans les gènes de prédisposition connus. Un séquençage d'exome sur les ADN constitutionnels de 25 individus a été réalisé avec la technologie *Illumina* (Plateforme de *Gustave Roussy*). Après analyses bioinformatiques, 15 gènes d'intérêt ont été sélectionnés et leurs mutations validées par séquençage de Sanger. Pour certaines familles, nous avons pu mettre en évidence la ségrégation de la mutation germinale entre parents et enfants atteints.

De manière intéressante, 7 familles sur 12 présentent une mutation de type perte de fonction dans des gènes appartenant à une super-famille de protéines impliquées entre autres dans la prolifération, la différenciation et l'adhésion cellulaire, certaines pouvant aussi réguler l'expression du facteur HIF. Un séquençage ciblé de ces

gènes d'intérêt est en cours dans une série indépendante de 16 familles. A moyen terme, des expériences de génétique fonctionnelle seront réalisées pour ces nouveaux gènes afin d'évaluer le caractère délétère de ces mutations germinales et mieux comprendre la physiopathologie des cancers du rein familiaux.

## ONCOGÉNÉTIQUE

### #3305 : Mutation du gène *EXT2* dans une forme familiale de chondrosarcomes centraux de localisation exclusivement thoracique

#### Auteurs :

Abdelkader Heddar (1), Pierre Fermey (1), Sophie Coutant (1), Emilie Angot (2), Jean-Christophe Sabourin (2), Paul Michelin (3), Nathalie Parodi (1), Françoise Charbonnier (1), Myriam Vezain (1), Stéphanie Baert-Desurmont (1), Thierry Frébourg (1), Isabelle Tournier (1)

1. Inserm U1079-IRIB et Service de Génétique - Centre Normand de Génomique Médicale et Médecine Personnalisée, Inserm, Université de Rouen et CHU de Rouen, Rouen, France
2. Service d'Anatomie et de Cytologie Pathologiques, CHU de Rouen, Rouen, France
3. Service d'Imagerie Médicale, CHU de Rouen, Rouen, France

**Mots clefs :** Chondrosarcome, (En)chondrome, *EXT2*, Costal, Exome, NGS

#### Résumé :

Le chondrosarcome (CS) est une tumeur d'origine cartilagineuse qui représente plus de 20 % de l'ensemble des tumeurs osseuses. Il se localise préférentiellement au niveau du squelette axial et ne concerne la cage thoracique que dans moins de 15 % des cas. On distingue deux sous-types anatomiques : central quand il se développe au niveau de la cavité médullaire osseuse et périphérique quand il prend naissance à la surface de l'os. Il peut être primaire chez l'adulte de plus de 50 ans ou secondaire à une lésion osseuse bénigne préexistante et affectant en général l'adulte plus jeune. Le risque de transformation maligne varie de 1 à 4 % pour l'ostéochondrome et l'enchondrome solitaires, de 3 à 5 % pour les ostéochondromes multiples ou maladie des exostoses multiples, une maladie héréditaire autosomique dominante associée à des mutations des gènes *EXT1* ou *EXT2*, et peut atteindre jusqu'à 50 % en cas de syndrome de Maffucci, une enchondromatose associée à des mutations somatiques récurrentes d'*IDH1* ou *IDH2*. Alors qu'aucune transmission de chondrosarcome n'a été rapportée à ce jour en dehors des rares CS périphériques secondaires à des ostéochondromes multiples surtout des os longs et du pelvis, nous rapportons ici une forme familiale de chondrosarcome central de localisation exclusivement thoracique et d'évolution favorable sauf pour un seul cas, avec une atteinte costale chez 3 apparentés au premier et deuxième degré, âgés de 30 à 40 ans, une atteinte scapulaire chez le 4<sup>ème</sup> patient et un enchondrome de la 9<sup>ème</sup> côte de découverte fortuite chez le plus jeune patient. Pour élucider les bases moléculaires à l'origine de cette présentation atypique, nous avons appliqué la stratégie d'exome comparatif intrafamilial. Les exomes de deux patients apparentés au troisième degré ont été séquencés pour identifier les variants rares non synonymes portés en commun par ces deux individus atteints. Parmi les 231 variants rares communs, une seule mutation disruptive a été identifiée. Cette mutation de type non-sens touche l'exon 2 du gène *EXT2*, habituellement associé à la maladie des exostoses multiples. Aucune forme d'ostéochondrome n'a été détectée chez les cinq patients, ni cliniquement, ni par l'examen radiologique et pathologique des pièces opératoires disponibles qui confirment l'origine centrale des tumeurs et excluent toute forme d'ostéochondrome. Cette mutation a été retrouvée chez l'ensemble des patients symptomatiques y compris celui atteint d'enchondrome ce qui laisse penser qu'il s'agit d'un chondrosarcome secondaire à des enchondromes solitaires. À notre connaissance il s'agit du premier cas mettant en évidence une association entre les mutations du gène *EXT2* et une atteinte cartilagineuse centrale de type chondrome ou chondrosarcome. Cette famille élargit ainsi le phénotype lié à des mutations du gène *EXT2* et suggère une interaction potentielle entre les voies moléculaires impliquées dans l'oncogenèse des chondromes et des ostéochondromes.

## ONCOGÉNÉTIQUE

### #3306 : Une mutation tronquante de la Granzyme M prédispose au mélanome

#### Auteurs :

Meriem BENFODDA (1), Angélique RIFFAULT (1), Vincent DESCAMPS (2), Nicole BASSET-SEGUIN (3), Céleste LEBBE (3), Catherine BOILEAU (1), Martine BAGOT (3), Armand BENSUSSAN (4), Nadem SOUFIR (1)

1. Département de génétique , Hôpital Bichât Claude Bernard, Paris, France
2. Service de Dermatologie , Hôpital Bichât Claude Bernard, Paris, France
3. Service de Dermatologie , Hôpital Saint Louis, Paris, France
4. U976: centre de recherche sur la peau , Hôpital Saint Louis, , France

**Mots clefs :** mélanome, prédisposition , GZMM

#### Résumé :

##### Introduction :

Malgré la découverte récente de nouveaux gènes de prédisposition au mélanome familial (*BAP1*, *TERT* et *POT1*) en plus de ceux connus depuis 20 ans (*CDKN2A* et *CDK4*), il demeure une grande héritabilité manquante, les gènes restent inconnus dans plus de 70% des familles. Ceci nous a poussé à réaliser une étude d'exome sur 44 patients atteints de MM afin d'identifier de nouveaux gènes de prédisposition au MM.

##### Matériels et Méthodes :

Un séquençage d'exome a été réalisé sur l'ADN constitutionnel de 44 patients atteints de MM : (i) 25 patients atteints de MM familial, (ii) 13 patients atteints de MM multiples sporadiques (3MM ou plus), (iii) 3 patients atteints de MM et de cancer du pancréas, (iv) 3 patients atteints de MM développés dans des zones non photo-exposées. Le séquençage a été réalisé à l'aide des Kits de capture Agilent V4 et V5, à une profondeur moyenne de 50X, sur HiSeq 2000 Illumina. L'analyse des variants a été faite grâce aux logiciels DNA nexus et Polyweb. Le filtrage des variants a porté en priorité sur les variants non-sens, décalant le cadre de lecture, inconnus et dont la fréquence allélique était inférieure à 1%.

##### Résultats :

Une mutation stop (c.598 C>T, p.Q200\*) était identifiée sur le gène *GZMM* chez 3 patients, un patient atteint de MM et de cancer du pancréas, et 2 autres patients atteints de MM familial, la mutation ségrégeant dans une des 2 familles. Cette mutation a été recherchée par séquençage Sanger chez 498 patients (341 MM familiaux, et 157 MM multiples sporadiques). Elle était retrouvée chez 10 patients (8 MM familiaux et 2 MM sporadiques multiples ; fréquence allélique = 1%). Les fréquences alléliques dans la population générale sont de 0.5%, dans la base de données ExomeVariant Server, et de 0.2% chez des contrôles caucasiens de l'Utah.

##### Discussion :

*GZMM* fait partie des 5 granzymes produites par l'organisme, elle est sécrétée par les cellules NK et les lymphocytes T et joue un rôle dans la réponse immunitaire innée et adaptative. Son rôle dans la réponse antitumorale n'est pas complètement élucidé mais les individus portant une activité réduite de *GZMM* seraient plus susceptibles de développer des cancers compte tenu de son rôle potentiel dans la surveillance immunitaire. La mutation p.Q200\* siège au niveau du domaine de liaison de *GZMM* à la surface des cellules, domaine très important pour son absorption et sa libération éventuelle dans le cytoplasme et conduit à la production d'une protéine tronquée dont le produit actif est faible dans le plasma et donc une capacité immunitaire réduite.

##### Conclusion :

Cette étude nous a permis de montrer qu'une mutation tronquante du gène *GZMM* est associée au risque du mélanome, et met en avant pour la première fois le rôle d'un gène de l'immunité dans la susceptibilité au mélanome.

## ONCOGÉNÉTIQUE

### #3317 : Panel NGS spécifique dédié au mélanome: étude de 40 tumeurs

#### Auteurs :

BENFODDA Meriem (1), Jérôme LAMORIL (1), Marion REOCREUX (1), Olivia BEAUDOUX (2), Florent GRANGE (3), Eduardo MARINHO (4), Lydia DESCHAMPS (5), Armand BENSUSSAN (6), Yacine MERROUCHE (2), Nadem SOUFIR (1)

1. Département de génétique, Hôpital Bichât Claude Bernard, Paris, France
2. Laboratoire de biologie médicale, Institut Jean-Godinot, Reims, France
3. Service de Dermatologie, CHU de Reims, Reims, France
4. Service d'anatomie pathologique, Hôpital Bichât Claude Bernard, Paris, France
5. Service d'anatomie pathologique, Hôpital Bichât Claude Bernard, Paris, France
6. U976: centre de recherche sur la peau, Hôpital Saint Louis, Paris, France

**Mots clefs :** génétique somatique, mélanome, pronostic

#### Résumé :

##### Introduction :

La génétique somatique du mélanome a énormément progressé ces dernières années. La découverte des mutations des gènes *BRAF*, *NRAS* et *KIT* a révolutionné le traitement du mélanome et a permis l'élaboration des thérapies ciblées. Toutefois, il existe une grande variabilité génétique non seulement d'une tumeur à autre mais aussi selon le stade de la maladie. Afin d'approfondir nos connaissances à ce sujet et pour un but à visé thérapeutique et pronostic nous avons étudié 40 tumeurs de mélanome par séquençage ciblé.

##### Matériels et méthodes :

Après extraction, l'ADN tumoral (au moins 30% de cellules tumorales) de 40 tumeurs (31 métastases de mélanome, 5 SSMs, 2 MMs acrolentigineux, et 2 MM nodulaires) a été séquencé à l'aide d'un panel composé de 15 gènes (*ALK*, *BRAF*, *CDKN2A*, *CTNNB1*, *GNA11*, *GNAQ*, *KIT*, *NOTCH1*, *NOTCH2*, *NRAS*, *RAC1*, *RAF1*, *SF3B1*, *TERT*, et *TP53*) sur un séquenceur de nouvelle génération (PGM, Ion Torrent) en utilisant des puces 316 avec une profondeur > 5000x. L'analyse des variants a été faite par des logiciels dédiés (Torrent Browser, wAnnoVar) et seuls ceux de fréquence allélique < 1% et ayant un score de qualité suffisante ont été retenus. Une comparaison des variants présents dans les bases de données (COSMIC, EXAC BROWSER).

##### Résultats :

Le séquençage a montré la présence de très nombreuses mutations (par ordre de fréquence faux sens (37.5%), non sens (2.5%), frameshift (0.8%), épissage (0.4%).

81% des mutations faux sens étaient des transitions C > T reflétant la mutagénèse induite par les UV. 47% étaient déjà répertoriées dans la base de données COSMIC dont 7% dans des tumeurs de mélanome. Les gènes les plus fréquemment mutés étaient par ordre de fréquence *NRAS*, *TERT*, *BRAF* (mutation V600E dans 50%), *TP53*, *KIT*, *CDKN2A*. D'autres mutations intéressantes étaient présentes les gènes *ALK*, *GNAQ*, *RAF1*, et *SF3B1*. Seules 2 tumeurs ne présentaient pas de mutations des gènes étudiés.

##### Discussion :

Les anomalies génétiques au sein des tumeurs sont multiples et souvent variables pour une même tumeur. Cette puce dédiée au mélanome est intéressante à plusieurs titres : grande sensibilité (95%), possibilité ultérieure de corrélation anatomopathologique et pronostique notamment au cours de son évolution métastatique, permettre un meilleur classement des tumeurs identification rapide de cibles thérapeutiques.

##### Conclusion :

Des études à plus grande échelle sont en cours afin de permettre la comparaison des résultats génétiques de plusieurs tumeurs métastatiques et des tumeurs primitives. Par ailleurs, ce panel de marqueurs sera utilisé dans une seconde étape à la recherche d'ADN plasmatisque tumoral circulant de mélanome.

## ONCOGÉNÉTIQUE

### #3318 : Les mélanomes chez le chien comme modèles spontanés pour la génétique et la thérapie des mélanomes humains

#### Auteurs :

Christophe Hitte (1), Edouard Cadieu (1), Clotilde de Brito (1), Jessica Alfoldi (2), Jérôme Abadie (3), Marc Gillard (1), Aline Primot (1), Béatrice Vergier (4), Ross Swofford (2), Thomas Derrien (1), Patrick Devauchelle (5), Jeremy Johnson (2), Benoît Hedan (6), Frédérique Degorce-Rubiales (7), Marie-Annick Lagadic (8), Jason Turner-Maier (2), Laëtitia Lagoutte (1), Kerstin Lindblad-Toh (2), Marie-Dominique Galibert (9), Catherine André (1)

1. Equipe "Génétique du chien" - IGDR, UMR6290/CNRS/Université de Rennes 1, Rennes, France
2. Broad Institute, MIT and Harvard, Cambridge, Etats-Unis
3. LUNAM University, ONIRIS, AMaROC, Ecole Nationale Vétérinaire, Agroalimentaire et de l'Alimentation Nantes Atlantique, Nantes, France
4. Service de Pathologie, CHU Bordeaux et Université Bordeaux Segalen, Bordeaux, France
5. , MICEN VET, Créteil, France
6. Equipe , UMR6290/CNRS/Université de Rennes 1, Rennes, France
7. , Laboratoire d'Anatomie Pathologique Vétérinaire du Sud-Ouest LAPVSO, Toulouse, France
8. , Laboratoires IDEXX, Saint Denis, France
9. Equipe "Expression des gènes et Oncogenèse" - IGDR, UMR6290/CNRS/Université de Rennes 1, Rennes, France

**Mots clefs :** Mélanome, Modèle chien, Exome, Histopathologie

#### Résumé :

Le chien domestique offre l'unique opportunité d'explorer les bases génétiques et d'envisager des essais cliniques pour des cancers homologues entre l'Homme et le chien. Nous avons démontré l'intérêt du modèle canin dans l'identification d'un nouveau gène impliqué dans les génodermatoses humaines (Grall *et al.* Nature Genet., 2012 ; Plassais *et al.* JID, 2015) ou dans des cancers rares chez l'Homme comme le sarcome histiocytaire (Shearin *et al.* Cancer Epidemiol Biomarkers Prev., 2012).

L'espèce canine développe différents types de mélanomes similaires à ceux de l'Homme. Mais, d'une façon très intéressante, certaines races développent des types particuliers de mélanome. L'étude de ces races fait du chien un très bon modèle pour élucider la génétique des différents types de ces tumeurs et, *in fine*, pour proposer des essais thérapeutiques en premier lieu chez le chien ciblant des voies oncogéniques pertinentes. Pour ce faire, nous avons analysé les données épidémiologiques et cliniques de 2350 tumeurs mélanocytaires canines, ainsi que les données histopathologiques de 420 mélanomes. Ces analyses ont permis de mettre en évidence l'homologie entre les différents sous-types liés aux localisations (cutanée, buccale et oculaire) chez le chien et l'Homme et de classer les mélanomes canins, proposant ainsi une valeur pronostique et une grille de lecture d'histopathologie comparable à celle utilisée chez l'Homme (Gillard *et al.* PCMR, 2014).

Nous avons analysé par séquençage d'exome 75 échantillons appariés de tumeur et de tissu normal de 3 races (25 golden retrievers, 25 labradors et 25 caniches) provenant des biobanques Cani-DNA (<http://dog-genetics.genouest.org> ; Rennes) et CCOGC (<http://ccogc.net> ; USA). L'analyse des variants somatiques a permis d'identifier une signature moléculaire mutationnelle propre aux mélanomes non induits par les UV de type N[C > T]G qui est différente de la signature UV caractérisée par des transitions C vers T ou CC vers TT au niveau des séquences dipyrimidiniques. Nous identifions, dans cette étude, 36 gènes significativement mutés (SMG), incluant des gènes « drivers » déjà connus chez l'Homme, tels que les suppresseurs de tumeur TP53 et PTEN, l'oncogène NRAS, ainsi que de nouveaux gènes candidats. Nous avons mis en évidence des patrons de mutations mutuellement exclusifs pour les SMG les plus prévalents tels que NRAS, NF1, TP53, ainsi que la présence des mêmes hotspots de mutations que chez l'Homme pour NRAS aux résidus Q61 et G12. L'analyse du gène BRAF a confirmé l'absence de mutations somatiques déjà reportée pour les mélanomes canins de topographie acrale ou muqueuse dont la genèse est non UV dépendante.

Ces résultats, en cours de validation fonctionnelle, permettent d'envisager des essais cliniques chez le chien, en ciblant les voies impliquées dans les mélanomes muqueux et, potentiellement, d'identifier de nouveaux gènes pour enrichir les connaissances sur les voies non UV impliquées dans les mélanomes humains.

## ONCOGÉNÉTIQUE

### #3327 : Le RNAseq pour la détection de translocation en diagnostic de routine.

#### Auteurs :

Delphine GUILLEMOT (1), Stéphanie REYNAUD (1), Sarah WATSON (2), Mégane BOUVET (1), Virginie BERNARD (3), Franck TIRODE (2), Olivier DELATTRE (1), Gaëlle PIERRON (1)

1. Unité de Génétique Somatique, Institut Curie, Paris, France
2. INSERM U830, Institut Curie, Paris, France
3. NGS - Plateforme ICGex, Institut Curie, Paris, France

**Mots clefs :** RNAseq, translocation, transcrit, fusion, bioinformatique, diagnostic, NGS

#### Résumé :

Spécialisée dans le diagnostic des sarcomes à translocation par la recherche de transcrits de fusion, l'UGS vise à proposer un catalogue de biomarqueurs le plus complet possible face à l'augmentation exponentielle du nombre de fusions décrites (veille technologique et bibliographique). L'exemple des sarcomes d'Ewing et Ewing-like illustre bien cette évolution. En 20 ans l'analyse est passée de 5 transcrits de fusion pour les sarcomes d'Ewing seuls à plus de 36 pour les sarcomes d'Ewing, Ewing-like et apparentés. Allier nos processus diagnostics à une démarche de recherche et développement active, nous a permis de mettre en évidence des translocations encore jamais décrites. Certaines tumeurs avec une forte suspicion clinique, ayant un profil anatomopathologique et immunohistochimique évocateur d'un sarcome à translocation, ont fait l'objet d'investigation en RNAseq. Cette étude a alors permis l'identification de la fusion BCOR-CCNB3 (Delattre, O. *et al.* 2012). Cette nouvelle fusion a ensuite été recherchée en PCR classique sur une large cohorte de cas négatifs, afin d'identifier de nouveaux cas positifs et d'en rétablir le diagnostic, caractérisant une nouvelle entité tumorale. Cette fusion a donc été intégrée au catalogue des marqueurs recherchés au sein du laboratoire. Cette preuve de concept nous a permis de conduire un projet financé par l'INCa et initié en 2014, appelé SARC NEG visant à séquencer par RNAseq 100 tumeurs pour lesquelles aucune translocation n'a pu être identifiée. Ce séquençage haut débit et la mise en place des pipelines informatiques spécialisés a permis de trouver des translocations jusqu'alors méconnues, d'autres rarement décrites, ou même de simples variants non détectables par les méthodes classiques (RT-PCR Taqman, FISH...). Ces découvertes ont d'ores et déjà permis de rétablir le diagnostic de plusieurs patients sans transcrit identifié jusqu'à présent et d'élargir les cohortes de tumeurs portant ces biomarqueurs. D'autres fusions originales sont également en cours de caractérisation au sein du laboratoire. Le RNAseq s'avère donc être un outil précieux pour la recherche de translocation. L'optimisation des outils bioinformatiques en différents modules d'analyse permettra de détecter en première intention des fusions déjà connues, puis dans un second temps, si rien n'est détecté, d'utiliser les données d'expression afin de caractériser au mieux le type de tumeur (cluster, variants). Dans un temps technique compatible avec les contraintes du diagnostic, avec un coût comparable à celui des techniques actuelles, et un gain considérable d'informations biologiques, le RNAseq sera à court terme la technique de référence pour le diagnostic en routine au sein de notre laboratoire.

## ONCOGÉNÉTIQUE

### #3329 : Utilisation du séquençage haut-débit pour la recherche et la validation de mutations de novo en mosaïque

#### Auteurs :

Alice FIEVET (1), Agnès COLLET (1), Catherine DEHAINAULT (1), Khadija ABIDALLAH (1), Catherine DUBOIS D'ENGLISHIEN (1), Christophe GUY (1), Virginie MONCOUTIER (1), Henrique TENREIRO (1), Nicolas VIELLARD (1), Vivien DESHAIES (2), Elodie GIRARD (2), Alban LERMINE (2), Lisa GOLMARD (1), Dominique STOPPA LYONNET (3), Marion GAUTHIER VILLARS (4), Claude HOUDAYER (5)

1. Laboratoire de génétique constitutionnelle, Institut Curie, Paris, France
2. Plateforme de bioinformatique, U900, Institut Curie, Paris, France
3. Service de génétique, Université Paris Descartes Sorbonne Paris Cité, INSERM U830, Institut Curie, Paris, France
4. Service de génétique, Institut Curie, Paris, France
5. Laboratoire de génétique constitutionnelle, Université Paris Descartes Sorbonne Paris Cité, INSERM U830, Institut Curie, Paris, France

**Mots clefs :** Mosaïque, séquençage haut-débit, rétinoblastome

#### Résumé :

En pathologie humaine, l'identification de mutation en mosaïque est importante dans la démarche diagnostique et le conseil génétique. Ces mutations peuvent être difficilement décelables par séquençage Sanger. La recherche de mutation *RB1* est un bon exemple car 90% sont *de novo*. Nous l'avons utilisée comme modèle pour définir une stratégie d'identification et de validation de ces mosaïques par séquençage haut-débit (NGS), après enrichissement d'un panel de gènes.

Afin de tester la faisabilité et la sensibilité de la technique, nous avons séquencé des mosaïques artificielles avec des ratios alléliques « Muté/Sauvage » attendus (RA) de 10%, 5%, 2,5% et 1,25%. Elles ont été obtenues par pools d'ADN extraits de sang total de 40 patients porteurs de mutations *RB1* monoalléliques connues (25 substitutions et 15 indels de 1 à 60 pb). Vingt patients porteurs de mosaïques décelées par séquençage Sanger, DHPLC ou NGS (PGM, LifeTechnologies) ont ensuite été analysés à deux reprises afin de valider la technique. Les librairies du panel de gènes ont été préparées par capture SureSelectQXT (Agilent) et séquencées avec un Nextseq500 (Illumina). Les substitutions ont été appelées par VarScan2 avec une fréquence minimale de 1%, un nombre minimal de 2 reads, et les indels par Pindel. Les seuils des MAPQ et BAPQ étaient fixés à 20.

Concernant les mosaïques artificielles, le pourcentage de mutations retrouvées diminuait lorsque le RA de la mutation était inférieur à 10% ; il était respectivement de 100%, 90%, 77% et 60% pour les RA de 10%, 5%, 2,5% et 1,25%. L'absence de détection de mutation était favorisée par la faible profondeur de lecture de certains exons et par la complexité de la mutation (indel). La levée des filtres de fréquence, de nombre minimal de reads et de BAPQ, permet d'augmenter le pourcentage de mutations détectées : 85% des mutations à un RA de 1,25% étaient visibles. Parmi les 20 patients porteurs de mosaïque : 18 mutations (90%) étaient retrouvées dans les 2 runs. Les 2 mosaïques les plus faibles n'étaient détectées que dans un seul run mais étaient retrouvées en cas de levée de filtres. Parmi ces 20 patients, un seul faux-positif non-récurrent au sein d'un run est apparu dans les 2 passages d'un même patient et la visualisation de l'alignement permettait d'éliminer ce variant correspondant à la fin d'un adaptateur mal élagué.

Les mosaïques peuvent être détectables à de faibles RA en fonction de la profondeur de lecture. Les variants faux-positifs récurrents, car liés à la région génomique séquencée, sont facilement identifiables. Quant aux variants faux-positifs sporadiques, il est peu probable de les retrouver chez un même patient dans deux runs indépendants. Ainsi, à l'aide de filtres d'analyse adaptés à la région séquencée, les recherches et confirmations de mosaïque peuvent être réalisées en diagnostic en testant le panel de gènes à 2 reprises chez chaque patient afin de distinguer les mutations du bruit de fond.

## ONCOGÉNÉTIQUE

### #3332 : Intérêt de l'approche multidisciplinaire en oncogénétique rénale: à propos d'une famille montrant l'association inhabituelle cancers du rein et du poumon dans le cadre d'un syndrome de Birt Hogg Dubé avec mutation du gène FLCN

#### Auteurs :

Virginie DORIAN (1), Jean-Christophe BERNHARD (2), Sophie GIRAUD (3), Mokrane YACOUB (4), Fanny MORICE PICARD (5), Hubert MIGNOT (6), François CORNELIS (7), Didier LACOMBE (8), Patricia FERGELOT (8)

1. Service de génétique médicale, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France
2. Service d'Urologie, , Bordeaux, France
3. Service de Génétique Moléculaire et Clinique, Hospices Civils de Lyon , Lyon, France
4. Service de pathologie, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France
5. Service de Dermatologie, Centre de référence des maladies rares de la peau, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France
6. Service de chirurgie urologique et générale, CH de Saintes, Saintes, France
7. Service d'Imagerie, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France
8. Service de Génétique médicale, Laboratoire MRGM, CHU de Bordeaux, Université de Bordeaux, Bordeaux, France

**Mots clefs :** Birt Hogg Dubé, folliculine, chromophobe, carcinome rénal, cancer bronchique

#### Résumé :

Nous rapportons le cas d'une jeune femme de 40 ans adressée dans le service d'urologie du CHU de Bordeaux pour prise en charge d'une récurrence d'un carcinome rénal à cellules claires (pT1a, grade 2 de Fuhrman), à 5 ans d'une néphrectomie partielle droite. Le bilan d'extension initial était négatif. Devant une atteinte multifocale et l'existence d'antécédents familiaux de tumeur rénale, la patiente est adressée à la consultation d'oncogénétique organisée en urologie trimestriellement, dans le cadre du centre expert PREDIR. L'histoire familiale retrouve outre un carcinome rénal et une tumeur cérébrale chez la mère, des tumeurs pulmonaires à type de carcinome bronchique chez 2 sœurs, l'une étant décédée, l'autre fumeuse ayant présenté plusieurs pneumothorax et une tumeur rénale. L'analyse moléculaire de *VHL* n'a pas retrouvé d'altération chez notre patiente mais l'analyse du gène *FLCN* effectuée en raison de l'atteinte multifocale et de l'antécédent familial de pneumothorax a permis d'identifier une duplication de 2 paires de bases dans l'exon 5 de ce gène, non répertoriée dans la base de données HGMD, affirmant le diagnostic de syndrome de Birt Hogg Dubé (OMIM : 135150). Une relecture du scanner thoracique le plus récent par le radiologue référent a mis en évidence des kystes pulmonaires. L'anatomo-pathologiste a confirmé le carcinome rénal mais de type chromophobe avec un contingent oncocytaire, histologie plus classique pour un BHD, le type à cellules claires étant rarement retrouvé dans ce syndrome. A la suite à ce diagnostic, une consultation spécialisée en Dermatologie a également été organisée pour notre patiente.

Dans la famille de cette patiente ont été diagnostiquées des tumeurs rénales, associées de façon inhabituelle dans le BHD à des cancers du poumon. Une telle association cancer du rein et cancer bronchique a déjà été rapportée. Nous discutons la nécessité, parallèlement à l'enquête génétique en cours pour identifier les sujets atteints de BHD dans cette famille, d'une description détaillée de tous les types tumoraux rencontrés afin de préciser ce qui peut être rattaché à la mutation de la folliculine identifiée.

La facilité de communication que procure la consultation de génétique organisée au sein du service d'urologie a permis une réévaluation rapide des lésions chez le cas index et le diagnostic de syndrome de Birt Hogg Dubé, qui prédispose notamment aux tumeurs du rein (15-20%) et au pneumothorax (24-29%). Ce diagnostic va également permettre un conseil génétique approprié dans la famille. Un diagnostic présymptomatique pourra être proposé à ses apparentés indemnes de toute pathologie tumorale, à partir de leur majorité. L'évolution lente des lésions tumorales rénales dans ce cadre conduit à l'abstention de tout geste chirurgical complémentaire chez notre patiente et à une surveillance régulière, en particulier sur les plans pulmonaire et rénal.

## ONCOGÉNÉTIQUE

**#3341 : Détermination du spectre tumoral, de la pénétrance et de l'utilité clinique des mutations constitutionnelles dans les nouveaux gènes de prédisposition aux cancers du sein et de l'ovaire : l'étude TUMOSPEC**

### Auteurs :

Olivier Caron (1), Séverine Eon-Marchais (2), Florence Coulet (3), Chrystelle Colas (4), Capucine Delnatte (5), Anne Fajac (6), Claude Houdayer (7), Christine Lasset (8), Michel Longy (9), Dominique Stoppa-Lyonnet (7), Dominique Vaur (10), Catherine Nogues (11), Jérôme Lemonnier (12), Fabienne Lesueur (2), Nadine Andrieu (2)

1. Département de Médecine Oncologique, Gustave Roussy Hôpital Universitaire, Villejuif, France
2. , Inserm U900, Mines Paris Tech, Institut Curie, Paris, France
3. Département de Génétique, GHU Pitié-Salpêtrière, Paris, France
4. Département de Génétique, GHU Pitié-Salpêtrière, Paris, France
5. Service d'Oncologie Médicale, Institut de Cancérologie de l'Ouest - Centre René Gauducheau, Nantes, France
6. , GHU Paris Est, Hôpital Tenon, Paris, France
7. Service de Génétique, Institut Curie, Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, Paris, France
8. Unité de Prévention et Epidémiologie Génétique / UMR CNRS5558, Centre Léon Bérard, Université Lyon 1, Lyon, France
9. Service de Génétique, Institut Bergonié, Bordeaux, France
10. Laboratoire de biologie et de génétique des cancers / U1079, Centre François Baclesse / INSERM Rouen , Caen, France
11. Service de Génétique, Institut Curie, Hôpital René Huguenin, Saint-Cloud, France
12. Breast Group, R&D, UNICANCER, Paris, France

**Mots clefs :** cancer du sein, prédisposition, pénétrance

### Résumé :

En l'absence d'anomalie des gènes *BRCA1* et *BRCA2*, analysés en routine chez les femmes dont l'histoire personnelle et familiale est évocatrice de prédisposition au cancer du sein (CS) ou de l'ovaire, les conseils de prise en charge sont difficiles à établir. Des mutations rares dans d'autres gènes de prédisposition au CS ont été identifiées par diverses approches. Le bénéfice clinique de l'analyse de ces gènes reste à évaluer. En effet, si l'association de certains de ces gènes avec le CS a été confirmée, les risques relatifs et absolus de cancer rapportés dans la littérature sont mal estimés en raison d'une mauvaise prise en compte du mode de sélection des cas étudiés. L'élaboration de recommandations, autres que celles basées sur le phénotype familial, est quasi impossible sans une estimation sans biais et précise de ces risques.

TUMOSPEC est une étude familiale nationale dont le but est d'estimer les risques relatifs et absolus de cancer pour les porteurs de mutations délétères dans ces gènes de prédisposition au CS. Seront inclus des cas index, auxquels une analyse de *BRCA1/2* aura été proposée dans le cadre du soin, venus consécutivement sans autre critère à une consultation réalisée dans l'un des centres du Groupe Génétique et Cancer (GGC Unicancer). Le comité de pilotage a défini un panel de 24 gènes, notamment impliqués dans les mécanismes de réparation des cassures double-brin de l'ADN par recombinaison homologue, la voie Fanconi, ou dans des prédispositions à des cancers à d'autres organes. Le panel TUMOSPEC sera analysé en parallèle de *BRCA1/2* dans les laboratoires d'analyse du GGC participant à l'étude. Les cas index porteurs d'une mutation délétère inviteront leurs apparentés, atteints ou non de cancer. Pour chaque membre de la famille, une analyse ciblée sur la mutation identifiée sera réalisée sur un prélèvement de salive pour étudier la ségrégation du variant avec le cancer. Chaque participant répondra à un questionnaire épidémiologique sur ses antécédents médicaux et son exposition à divers facteurs de risque. L'ensemble des données, médicales et génétiques, sera centralisé par la plateforme d'investigation dédiée à la mise en place et à la gestion d'études d'épidémiologie génétique (PIGE). L'estimation de la pénétrance des mutations dans les gènes étudiés sera réalisée à l'aide de méthodes statistiques limitant les biais de sélection des cas index (type GRL). Le spectre tumoral des mutations sera également décrit. Les données familiales associées aux gènes pour lesquels le nombre de familles sera trop faible pour atteindre une précision suffisante seront analysées conjointement à d'autres études via les consortia internationaux. Une étude pilote pour tester la faisabilité du projet TUMOSPEC sera réalisée sur deux ans.

A terme, les résultats de TUMOSPEC permettront d'apporter les éléments nécessaires à la rédaction de recommandations de prise en charge et ainsi de transférer l'analyse de ces gènes de la recherche vers le soin.

## ONCOGÉNÉTIQUE

### #3359 : Mise en place du diagnostic de prédisposition aux cancers digestifs et gynécologiques en Alsace par séquençage haut débit avec le panel de gènes ONCODIGGYN

#### Auteurs :

Maryline MAEDER (1), Nicolas TARIS (2), Christophe CORDIER (3), Samea SAMIMI (4), Anne-Sophie LEUVREY (4), Julien TARABEUX (4), Jean MULLER (4), Jean-Marc LIMACHER (5), Antony LE BECHEC (6), Qing WANG (7), Danièle MULLER (8), Christine MAUGARD (9)

1. UF1422 Oncogénétique Moléculaire, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
2. Consultation d'Oncogénétique, Centre Paul Strauss, Strasbourg, France
3. UF6948 Oncogénétique Evaluation familiale et suivi, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
4. Laboratoire de diagnostic génétique, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
5. Consultation d'Oncogénétique, service d'Hémo-Oncologie, Hospices Civils de COLMAR, COLMAR, France
6. Institut Régional contre le Cancer (IRC), HUS et CPS, Strasbourg, France
7. Laboratoire de diagnostic génétique, Centre Léon Bérard, Lyon, France
8. Laboratoire d'oncogénétique, Centre Paul Strauss, Strasbourg, France
9. UF1422 Génétique Moléculaire, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France

**Mots clefs :** Séquençage haut débit, capture, prédisposition, cancers digestifs, cancers gynécologiques

#### Résumé :

En 2013, sur 9363 cas-index vus en consultation d'oncogénétique en France pour une prédisposition héréditaire aux cancers digestifs et gynécologiques, 25% seulement ont bénéficié d'une analyse moléculaire portant sur les gènes MMR (*mismatch repair*), les gènes de prédisposition aux polyposes ou aux cancers gastriques à cellules isolées. Un pourcentage élevé des cas testés a reçu un résultat non informatif. Ainsi, une mutation n'aura été identifiée que dans 16,2% (2,9-45,2) des cas pour les analyses effectuées sur les gènes MMR. La faible efficacité et le coût élevé des approches gène par gène, nous ont incité à débiter un programme basé sur le séquençage en parallèle d'un panel à façon de 26 gènes (panel ONCODIGGYN) à partir d'une librairie d'ADN obtenue après enrichissement par capture ciblée. Certains de ces gènes sont déjà connus pour leur valeur diagnostique, d'autres sont encore considérés comme des candidats émergents ou potentiels.

Les patients retenus pour cette étude ont une analyse somatique tumorale évocatrice d'un syndrome de Lynch, ou appartiennent à une famille Amsterdam positive, à une famille sein-colon, ou ont des antécédents personnels ou familiaux de polyposes, de cancer de l'estomac à cellules isolées, de cancer du pancréas ou compatibles avec une déficience constitutionnelle des gènes MMR. Ils ont reçu une invitation à venir consulter de nouveau ou ont été informés du projet lors d'une consultation de génétique initiale.

Une première série test de 8 patients porteurs d'altérations génétiques connues sur les gènes majeurs de prédisposition analysés au laboratoire (variants, grands réarrangements) a été réalisée. Vingt et un cas-index ont été recrutés. Les ADN extraits ont été qualifiés, puis fragmentés par ultrasonication. La librairie a été réalisée avec la solution SureSelect<sup>XT2</sup> (Agilent technologies). Le séquençage a été effectué sur un séquenceur Miseq Illumina avec le MiSeq Reagent Kit v2. Les critères de qualités attendus ont été satisfaits : profondeur de lecture moyenne de 300X, 95% des bases détectées avec un score de qualité  $\geq$  30. Les variants identifiés par séquençage en Sanger ou les grands réarrangements identifiés par MLPA ont été retrouvés sur notre série test (8 cas) ou sur les 3 témoins positifs inclus dans les séries ultérieures.

Le pipeline d'analyse mis en place génère des fichiers de type \*.vcf et \*annotated.vcf. Parmi les 21 patients testés, 3 sont porteurs d'une mutation délétère connue sur *MLH1* ou *MSH2*, 3 autres présentent une mutation décalage du cadre de lecture et 2 grands réarrangements sur *PMS2* (confirmation en cours).

L'analyse des résultats se poursuit pour les 15 autres patients, 21 nouveaux patients ont été recrutés. Les variations de séquence découvertes devront être annotées, leur signification dans la prédisposition au cancer précisée. Le passage en routine de cette stratégie diagnostique est faisable. La contribution à l'établissement de bases de données nationales s'avère indispensable.

## ONCOGÉNÉTIQUE

**#3361 : High frequency of the recurrent c.1310\_1313delAAGA BRCA2 mutation in nord-east of morocco and implication for hereditary breast-ovarian cancer prevention and control**

### Auteurs :

Fatima Zahra LAARABI (1), Ilham Ratbi (2), Siham CHAFAI ELALAOUI (1), Loubna MEZOUIAR (3), Yassamine DOUBAJ (1), Laila BOUGUENOUCHE (4), Noureddine BENJAFFAR (5), Karim OULDIM (4), Abdelaziz SEFIANI (1)

1. Centre de Génomique Humaine, Faculté de médecine et pharmacie, Université Mohammed V, Rabat, Maroc, Département de Génétique Médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Maroc
2. Centre de Génomique Humaine, Faculté de médecine et pharmacie, Université Mohammed V, , Rabat, Maroc
3. Service de radiothérapie, Centre d'Oncologie Hassan II, , Oujda, Maroc
4. Département de Génétique Médicale, Centre Hospitalier Universitaire Hassan II, , Fès, Maroc
5. Service de radiothérapie, Institut National d'Oncologie, , Rabat, Maroc

**Mots clefs :** Breast cancer, BRCA2, recurrent mutation, North-east Morocco

### Résumé :

Background: In the Moroccan population and to date a limited number of BRCA1/2 germline mutations have been reported in hereditary breast and/or ovarian cancer. Less than 20 different mutations of these two genes have been identified in Moroccan patients, and recently we reported a further BRCA2 mutation (c.1310\_1313delAAGA; p.Lys437IlefsX22) in three unrelated patients, all from the North-East of Morocco. We aimed in this study to evaluate the frequency and geographic distribution of this BRCA2 frameshift mutation, in order to access its use as the first-line BRCA genetic testing strategy for Moroccan patients. Patients and methods: We enrolled in this study 73 patients with suggestive inherited predisposition to breast and ovarian cancers. They were from different regions of Morocco, referred to oncogenetic consultation of our center between 2005-2015 period, mainly by the National Institute of Oncology in Rabat. In second time, two other groups of 39 and 9 patients from hospitalo-university centers of Fès and Oujda cities respectively were also investigated. All subjects gave written informed consent to BRCA1/2 genetic testing. According to available resources of our lab and enrolled families, 51 patients were analyzed by the conventional individual exon-by-exon Sanger sequencing, 22 patients were able to benefit from a BRCA Next generation sequencing. Whereas we performed only target screening for exon 10 of BRCA2 gene in DNA patients monitored at Fès and Oujda centers. Results: Overall, and among the 121 patients analyzed for at least the exon 10 of the BRCA2 gene, the c.1310\_1313delAAGA frameshift mutation was found in 14 patients. Genealogic investigation revealed that all carriers of this mutation shared the same geographic origin and were descendants of the North-East of Morocco. Conclusion: In this study, we highlighted that c.1310\_1313delAAGA mutation of BRCA2 gene is recurrent with high frequency in patients from the North-East region of Morocco. Therefore, we propose to use, in public health strategies, the detection of this mutation as the first-line screening tests in patients with breast and ovarian cancer originated from this region.

## ONCOGÉNÉTIQUE

### #3377 : Fréquence des délétions emportant l'exon 1 du gène *STK11* dans le syndrome de Peutz-Jeghers

#### Auteurs :

Marie-Pierre Buisine (1), Tonio Lovecchio (2), Michel Crépin (2), Cathy Flament (2), Lauriane Briois (2), Caroline Abadie (3), Bruno Delobel (4), Jacqueline Duffour (5), Sandra Fert Ferrer (6), Jean-Pierre Fricker (7), Olivier Ingster (8), Philippe Jonveaux (9), Dominique Leroux (10), Christine Maugard (11), Alain Morali (12), Pascal Pujol (13), Laurence Venat (14), Sylvie Manouvrier (15), Sophie Lejeune (16), Julie Leclerc (1)

1. Oncologie et Génétique Moléculaires, Institut de Biochimie et Biologie Moléculaire, et Univ. Lille, Inserm, UMR-S 1172 - JPArc - Centre de Recherche Jean-Pierre Aubert Neurosciences et Cancer, CHU Lille, Lille, France
2. Oncologie et Génétique Moléculaires, Institut de Biochimie et Biologie Moléculaire, CHU Lille, Lille, France
3. Oncologie Génétique, Centre Eugène Marquis et CHU Rennes, Rennes, France
4. Centre de Génétique chromosomique, Hôpital St Vincent, Lille, France
5. Oncogénétique, Centre Val d'Aurelle, Montpellier, France
6. Oncogénétique, CH Chambéry, Chambéry, France
7. Génétique oncologique, Centre Paul Strauss, Strasbourg, France
8. Oncogénétique, Centre Paul Papin et CHU Angers, Angers, France
9. Génétique, CHU Nancy - Hôpitaux de Brabois, Vandoeuvre les Nancy, France
10. Oncogénétique, CHU Grenoble, Grenoble, France
11. Oncogénétique, CHU Strasbourg, Strasbourg, France
12. Médecine infantile et génétique clinique, CHU Nancy - Hôpitaux de Brabois, Vandoeuvre les Nancy, France
13. Oncogénétique, CHU Montpellier – Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
14. Génétique, CHU Bordeaux, Limoges, France
15. Génétique Clinique, et Univ. Lille, EA 7364 - RADEME - Maladies RAres du Développement et du Métabolisme : du phénotype au génotype et à la Fonction, CHU Lille, Lille, France
16. Génétique Clinique, CHU Lille, Lille, France

**Mots clefs :** Peutz-Jeghers, *STK11*, LKB1, hamartome, MLPA

#### Résumé :

Le syndrome de Peutz-Jeghers (SPJ) est un syndrome rare, à transmission autosomique dominante, caractérisé par la présence de polypes hamartomateux, une lentiginose périorificielle, et une prédisposition aux cancers gastrointestinaux et à certains autres cancers extradiigestifs (pancréas, sein, sphère gynécologique, poumon). La principale cause de SPJ correspond à des anomalies constitutionnelles du gène *STK11*. Le taux de détection de mutation dépend beaucoup des critères d'inclusion. Dans les formes typiques, une anomalie du gène *STK11* serait détectée dans environ 90% des cas, les réarrangements de grande taille représentant jusqu'à 30% des anomalies identifiées. Néanmoins, certains cas restent non expliqués, suggérant l'existence d'un autre gène de susceptibilité.

Entre 2003 et 2015, nous avons analysé le gène *STK11* chez 73 patients suspectés de syndrome de Peutz-Jeghers. Parmi eux, 36 patients répondaient aux critères cliniques stricts du SPJ. Parmi les 37 autres patients étudiés, 35 étaient suspectés de SPJ en raison de la présence de lentigines, de la découverte d'un hamartome unique, d'une tumeur ovarienne des cordons sexuels, plus ou moins associée à une histoire familiale de cancers du spectre (pancréas, sein) et 2 patients correspondaient à des découvertes fortuites (par CGH array). Les analyses par séquençage et par MLPA du gène *STK11* ont permis d'identifier une mutation ponctuelle chez 25 patients (38%) et un réarrangement de grande taille chez 17 patients (23%). L'analyse de la méthylation du promoteur du gène *STK11* réalisée chez certains patients n'a pas mis évidence d'hyperméthylation constitutionnelle. Par contre, l'analyse des gènes *SMAD4* et *BMPR1A* réalisée en raison d'un phénotype digestif atypique a permis l'identification d'une mutation chez 3 patients (4%), dont un présentant des lentigines.

Au total, nous avons identifié une anomalie du gène *STK11* chez 42 patients (57%), soit un taux de détection de 92% dans les formes typiques (33/36) versus 24% dans les formes atypiques (9/37). Les rares cas typiques sans mutation identifiée correspondaient à des cas sporadiques, suggérant la possibilité d'une mutation en mosaïque non détectée par les techniques utilisées, plutôt que l'implication d'un nouveau gène. La majorité des mutations impliquaient l'exon 1 (22/42, 52%) : 7 des 25 mutations ponctuelles identifiées (soit 28%) et 15 des 17 réarrangements identifiés (soit 88%).

## ONCOGÉNÉTIQUE

**#3384 : Identification de nouvelles mutations constitutionnelles associées aux formes familiales de cancer du sein et de l'ovaire par analyse en séquençage parallèle massif d'un panel de 24 gènes.**

### Auteurs :

Inès SCHULTZ (1), Mélanie GANZER (1), Christine MAUGARD (2), Jean Marc LIMACHER (3), Jean Pierre FRICKER (4), Danièle MULLER (1)

1. Laboratoire d'oncogénétique, Centre de lutte contre le cancer Paul Strauss, STRASBOURG, France
2. Service d'Oncologie, UF6948, , Hôpitaux Universitaires, , STRASBOURG, France
3. Génétique oncologique, Hôpitaux civils, COLMAR, France
4. Unité de génétique oncologique , Centre de lutte contre le cancer Paul Strauss, STRASBOURG, France

**Mots clefs :** cancer du sein, gènes de prédisposition, NGS

### Résumé :

Introduction : Les mutations constitutionnelles monoalléliques et inactivatrices des gènes *BRCA1* et *BRCA2* sont associées à un risque élevé de développer un cancer du sein ou de l'ovaire. Cependant, ces mutations ne contribuent pour environ 20% des familles présentant une agrégation familiale de cancer du sein et/ou de l'ovaire, aussi l'anomalie génétique responsable du syndrome familial reste à être identifiée dans plus de 80% des familles.

L'émergence de nouvelles technologies telle que le séquençage parallèle massif (NGS) et des nouvelles connaissances relatives aux gènes de prédisposition émergents contribue à la remise en question de la stratégie des tests génétiques offerts aux patientes. Afin de déterminer la prévalence de mutations germinales dans ces autres gènes de prédisposition au cancer, nous avons testé un panel de 24 gènes par séquençage NGS sur une cohorte de patientes-cas index connues pour être non porteuses de mutation délétère dans les gènes *BRCA1* ou *BRCA2*.

Méthodes : L'étude a porté sur une série de patientes - cas index non porteuses d'une mutation *BRCA1* ou *BRCA2*, recrutées sur les 4 sites de consultation de génétique oncologique de la région Alsace et comportant parmi leurs apparentés atteintes au minimum 3 cas de cancer du sein ou de l'ovaire.

Les 24 gènes du panel sont soit associés à un risque élevé de cancer du sein dans des syndromes majeurs, soit connus pour être associés à un risque modéré à faible de cancer du sein ou associés aux voies de réparations des dommages de l'ADN en partenariat avec *BRCA1/2*.

L'analyse a été réalisée par séquençage parallèle massif (NGS) sur Miseq (Illumina) de bibliothèques préparées par capture SureSelect QXT. La comparaison de cette méthode de préparation de bibliothèques à celle du kit *BRCA Hereditary cancer MASTR* de la société Multiplicom sera présentée. L'analyse des données obtenues a nécessité la mise en place et la validation d'un pipeline bio-informatique et l'adaptation du personnel technique à ces nouvelles stratégies.

Résultats : Le séquençage, en 2x150pb, sur séquenceur Miseq, de la bibliothèque préparée par capture et enrichissement SureSelect génère 7Gb de données de bonne qualité avec 95% des bases qui présentent un score de qualité à Q30. Les régions ciblées sont toutes couvertes avec une profondeur moyenne de 150 -300 fois, suffisante pour détecter les petites insertions, délétions mais pas les grands réarrangements.

L'analyse préliminaire de 20 cas a permis d'identifier deux mutations constitutionnelles délétères sur 2 gènes, *PALB2* et *RAD51C*. L'étude présentera les résultats de la poursuite de ces analyses qui devrait permettre de déterminer la fréquence des mutations constitutionnelles dans les gènes du panel et posera la question de l'impact sur le suivi clinique des patientes porteuses. Recueillir et associer ce type de données avec les informations cliniques est d'importance pour offrir des règles de conduite appropriée au management du risque de cancer du sein/ovaire des porteuses de mutation.

Conclusion : L'analyse d'un panel de gènes, en sus des gènes *BRCA1* et *BRCA2*, permet l'identification de nouveaux gènes pouvant être associés au risque de cancer du sein ou de l'ovaire. Nous confirmons la possibilité d'une contribution des gènes *PALB2* et *RAD51C* qui avait déjà été rapportée.

Outre l'identification de nouvelles altérations responsables du syndrome cancer du sein et/ou de l'ovaire, cette étude va nous permettre d'optimiser les stratégies d'analyse basées sur l'utilisation du séquençage haut débit en termes de délai de rendu, et de capacités diagnostiques.

## ONCOGÉNÉTIQUE

**#3395 : Accréditation EN ISO 15189 de l'examen génétique des gènes BRCA1 et BRCA2 à l'Institut Paoli Calmettes par séquençage massif en parallèle**

### Auteurs :

Audrey Remenieras (1), Violaine Bourdon (1), Cornel Popovici (1), Tetsuro Noguchi (1), Hagay Sobol (1), Nelly Gisbert (1), Virginie Bosco-Drayon (1), Véronique Wagniez (1)

1. Laboratoire d'Oncogénétique Moléculaire, Institut Paoli Calmettes, Marseille, France

**Mots clefs :** Accréditation EN ISO 15189, Séquençage massif en parallèle (SMP), CNV, Gènes BRCA1 et BRCA2

### Résumé :

Depuis 2012 le Département de Biologie du Cancer de l'Institut Paoli Calmettes est engagé dans le processus d'accréditation des laboratoires selon la norme ISO EN 15189 pour répondre aux exigences de la loi HPST. Au printemps 2014 les techniques de PCR et de séquençage par Sanger ont été validées par le Cofrac lors de l'audit.

Au printemps 2013 le Laboratoire d'Oncogénétique Moléculaire a entamé le transfert du séquençage par Sanger (technique de référence) en séquençage massif en parallèle (SMP) pour les gènes *BRCA1* et *BRCA2* selon le process Multiplicom/Illumina/SophiaGenetics-JSI.

La validation de méthode pour les mutations ponctuelles a porté sur la totalité des variations délétères identifiées à l'IPC et la majorité des autres variations pour vérifier la détection des anomalies tout au long des 2 gènes.

177 patients dont 45 en double aveugle ont ainsi été analysés, ce qui correspond à 2124 variations toutes classes confondues : 100% des variations identifiées en Sanger ont été retrouvées en SMP.

Les variations non couvertes par les amplicons du Master Kit BRCA (introniques éloignées) ont été éliminées de cette validation.

Grâce au dossier de validation de méthode poussé sur l'identification des mutations ponctuelles dans les gènes *BRCA1/2* par SMP, le process a été accrédité par le COFRAC premier semestre 2015. Depuis Mai 2015 les examens *BRCA1/2* de routine sont rendus par séquençage massif en parallèle avec confirmation de toutes les variations (en dehors des variants de classe 1) en séquençage Sanger. La file d'attente des patients liée à l'encombrement technologique sur les séquenceurs capillaires a diminuée de moitié entre mai et octobre 2015 permettant de contrôler les délais en relation avec une bonne prise en charge médicale des patients

Le process pour la recherche des grands remaniements (CNV) pour les gènes *BRCA1/2* est en cours d'accréditation par le COFRAC pour les principes de MLPA (Multiplex ligation-dépendent probe amplification), QMPSF (Quantitative Multiplex PCR of Short Fluorescent Fragment) et SMP. Tout CNV ou indétermination est contrôlé par MLPA.

613 patients testés dont 575 en double aveugle ont été analysés :

-100% des CNV ont été retrouvés

- un taux de 16% de vérification par MLPA a dû être réalisé

Les régions non couvertes par les amplicons du Master Kit BRCA ainsi que l'exon 20 de *BRCA1* qui présente un bruit de fond trop important pour l'analyse bio-informatique ont été éliminées de cette validation.

La mise en place du SMP pour les mutations ponctuelles ainsi que les CNV associé à notre engagement dans l'accréditation nous a permis d'optimiser notre process pour la prédisposition aux cancers du sein et de l'ovaire. Ce process sera adopté pour les autres thématiques dans les mois à venir.

## ONCOGÉNÉTIQUE

### #3415 : Modèle spontané de sarcome histiocytaire : mise en évidence de mutations somatiques et cible thérapeutique chez le chien

#### Auteurs :

Mélanie Rault (1), Benoît Hedan (2), David Gillot (3), Ronan Ulvé (1), Edouard Cadieu (1), Clotilde de Brito (1), Anne-Sophie GUILLORY (4), Patrick Devauchelle (5), Olivier Albaric (6), Jean-François Emile (7), Laëtitia Lagoutte (1), Nadine BOTHEREL (4), Thomas Derrien (1), Christophe Hitte (1), Jean Donadieu (8), Catherine André (1)

1. Equipe "Génétique du chien" - IGDR, UMR6290/CNRS/Université de Rennes 1, Rennes, France
2. Equipe , UMR6290/CNRS/Université de Rennes 1, Rennes, France
3. Equipe "Expression des gènes et Oncogenèse" - IGDR, UMR6290/CNRS/Université de Rennes 1, Rennes, France
4. Equipe "Génétique du chien" - IGDR, UMR6290/CNRS/Université de Rennes 1, RENNES, France
5. , MICEN VET, Créteil, France
6. Service de Pathologie, Ecole Nationale Vétérinaire, Agroalimentaire et de l'Alimentation Nantes Atlantique, Nantes, France
7. Service d'histopathologie, Hôpital Ambroise Paré, Paris, France
8. Service d'héματο-oncologie pédiatrique, Hôpital Trousseau, Paris, France

**Mots clefs :** Sarcome histiocytaire, cancer, maladie rare, modèle animal, chien, oncogénétique

#### Résumé :

Avec plus de 400 races de chiens sélectionnées par l'Homme, l'espèce canine offre autant d'isolats génétiques dans lesquels ségrégent, avec de fortes fréquences, des maladies spécifiques pour la plupart homologues aux maladies humaines. Le chien développant les mêmes cancers que l'Homme, avec des prédispositions raciales étonnantes et vivant dans le même environnement, il constitue un modèle naturel pour étudier ces cancers sur les plans moléculaire et thérapeutique. Ainsi, le bouvier bernois, avec sa forte prédisposition pour le sarcome histiocytaire (SH) (Abadie, Hédan *et al.* 2009), est un modèle de choix pour identifier les mécanismes génétiques et tester des médicaments pour ce cancer rare chez l'Homme et de ce fait peu étudié. Nous avons collecté 2200 prélèvements de sang et 900 prélèvements de tissus ainsi que les informations généalogiques de bouviers bernois atteints grâce à la Biobanque Nationale Cani-DNA, créée au laboratoire (<http://canidna.univ-rennes1.fr>).

L'analyse des mutations somatiques identifiées par analyse RNA-Seq a permis d'identifier des mutations récurrentes et exclusives, dans plusieurs gènes de la voie des MAPkinases. Un gène majeur de la voie MAPK présente des mutations somatiques dans 50% des tumeurs analysées sur 100 chiens atteints, aux mêmes hotspots de mutation que ceux répertoriés dans les cancers humains. Pour explorer l'implication fonctionnelle de ces mutations dans le SH et tester des médicaments ciblant la voie MAPK, nous avons développé 4 lignées de SH canines, toutes mutées pour ce gène. Ces lignées mutées présentent une suractivation de la voie MAPK, et nous les utilisons actuellement pour tester des molécules utilisées en oncologie humaine et qui sont inhibitrices de cette voie de signalisation.

La transposition des données canines à la médecine humaine est en cours et permettra, nous l'espérons, de proposer des essais thérapeutiques chez des chiens atteints de SH en amont d'essais chez les patients, au bénéfice de la médecine humaine et vétérinaire.

## ONCOGÉNÉTIQUE

**#3425 : Une polypose juvénile avec mutation hétérozygote du gène SMAD4 révélée par une histoire familiale de gastrite hypertrophique.**

### Auteurs :

Pascaline Berthet (1), Stéphanie Baert-Desurmont (2), Julie Tinat (3), Cindy Colson (4), Sophie Krieger (5), Laurent Castera (5), Thierry Frebourg (2)

1. Oncogénétique, Centre François Baclesse, Caen, France
2. Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU Charles Nicolle Rouen, Rouen, France
3. Oncogénétique, CHU Charles Nicolle Rouen, Rouen, France
4. Génétique, CHU Caen, Caen, France
5. Laboratoire de Génétique Moléculaire, Centre François Baclesse, Caen, France

**Mots clefs :** Juvenile polyposis syndrome, Menetrier disease, SMAD4, Transforming Growth Factor alpha, Transforming Growth Factor bêta.

### Résumé :

Monsieur R., né en 1966, est référé en consultation d'oncogénétique du fait d'une histoire personnelle et familiale de maladie de Ménétrier, maladie présente également chez sa sœur et chez sa mère.

Le recueil des antécédents montre l'existence de polypes duodénaux, de polypes coliques (polypose atténuée mixte adénomateuse et hyperplasique) chez les 3 sujets atteints.

Par ailleurs, sa mère a développé un cancer du colon droit à 48 ans et sa sœur un cancer du sein à 46 ans.

Du fait de cette gastrite hypertrophique révélée par une anémie, une gastrectomie a été réalisée en 2007, pas de transformation carcinologique. Sa sœur a été également opérée.

Sur le plan génétique :

Devant la complexité de cette histoire familiale et la très forte probabilité d'un déterminisme génétique dans la famille, une analyse non ciblée des gènes de prédisposition au cancer colorectal a été réalisée chez le propositus par séquençage haut débit. Une mutation délétère du gène SMAD4, présente à l'état hétérozygote a été caractérisée.

A noter l'absence d'argument somatique en faveur d'un syndrome de Lynch sur les adénomes avancés présents chez lui et chez sa sœur.

Discussion :

L'hypothèse d'une polypose juvénile n'avait pas été évoquée d'emblée du fait de l'absence d'arguments histologiques en faveur sur les biopsies coliques et gastriques répétées. Une relecture histologique n'a pas apporté d'argument complémentaire.

Toutefois, si l'aspect macroscopique de l'estomac était évocateur de la présence d'une maladie de Ménétrier, les biopsies gastriques n'étaient en fait pas typiques du fait de l'atteinte de l'antrum (qui est en théorie épargné dans la maladie de Ménétrier) et de l'absence nette d'atrophie des glandes.

L'analyse de la littérature a retrouvé deux publications sur le même sujet, un article récent (juillet 2015) fait également état de cette association.

L'hypothèse physiopathologique serait celle de l'implication de la voie du TGF bêta. L'inactivation de cette voie entraîne une surexpression du TGF alpha, (donnée connue dans la maladie de Ménétrier), ce qui aurait pour conséquence la formation d'une hyperplasie foveolaire, avec un rôle potentiel de l'infection par *Helicobacter Pylori*.

L'analyse par séquençage haut débit a donc été d'un apport majeur en caractérisant la mutation du gène responsable, tant pour la compréhension de cette histoire familiale que pour la prise en charge des apparentés.

## ONCOGÉNÉTIQUE

### #3428 : Contribution de la perte d'hétérozygotie pour expliquer l'inactivation du second allèle dans les tumeurs du sein porteuses de variants sur le gène BRCA1

#### Auteurs :

Elizabeth Santana Dos Santos (1), Sandrine Caputo (2), Adrien Briaux (3), Camille Benoist (2), Claude Houdayer (2), Anne Vincent-Salomon (4), Amanda Spurdle (5), Dominique Stoppa-Lyonnet (2), Melissa Southey (6), Etienne Rouleau (2)

1. Oncology, Hospital Sirio Libanes, São Paulo, Brazil, Brésil
2. Génétique, Institut Curie, PARIS, France
3. Génétique, Institut Curie, Paris, France
4. Pathologie, Institut Curie, Paris, France
5. Molecular Cancer Epidemiology, QIMRberghofer Medical Research Institut, Brisbane, Australie
6. Pathology, The University of Melbourne, Australia, France

**Mots clefs :** perte d'hétérozygotie - BRCA1 - caractéristique moléculaire des tumeurs - cancer du sein et de l'ovaire - variants de signification inconnue

#### Résumé :

**Contexte:** Les mutations constitutionnelles du gène BRCA1 augmentent considérablement le risque de cancer du sein et / ou de l'ovaire. Comme tous les gènes suppresseurs de tumeur, la seconde inactivation de l'allèle devrait expliquer l'initiation du cancer. La fréquence des pertes d'hétérozygotie (LOH) a été rapportée de l'ordre de 80% pour les cancers du sein liés au gène *BRCA1*, alors que 50% des cancers du sein sporadiques présentent cette altération. Pour mutation pathogène et avec une sensibilité technique suffisante, une LOH de l'ordre de 100% de l'allèle sauvage est attendue hors phénomène de méthylation ou d'inactivation par mutation sur le second allèle. L'objectif de cette étude est de préciser la fréquence des LOH en fonction de la nature des variants du gène BRCA1.

**Matériel et méthodes:** Nous avons effectué une analyse par pyroséquençage ciblé sur le variant de la perte d'hétérozygotie (LOH) sur l'ADN extrait des tumeurs. Lorsque l'équilibre allélique a été trouvé pour un variant délétère, une étude complémentaire est réalisée à la recherche d'une méthylation du promoteur (pyroséquençage) et d'un criblage tumoral complet (NGS – Illumina GenRead BRCA1) à la recherche d'un événement expliquant la perte de l'allèle sauvage.

**Résultats:** 81 tumeurs du sein ont été analysées pour 26 variants différents du gène BRCA1 provenant de la base de données UMD-BRCAShare-BRCA1 : 10 mutations causales, 10 UV et 6 variants neutres/probablement neutres. Au total, 60% des cancers avaient une LOH du locus BRCA1 (49/81). Il y avait une tendance à plus de LOH avec les variants causaux (67%) que les variants classes 1/2 (48%). Par contre, l'allèle sauvage était perdu dans 86% des cas pour les mutations causales contre 31% pour les variants classes 1/2. Les tumeurs avec des mutations causales faux sens ont moins fréquemment une LOH de l'allèle sauvage que les mutations causales avec un codon stop prématuré ( $p < 0,001$ ,  $\chi^2$ ). 18/54 tumeurs avec une mutation causale présentaient un équilibre allélique. La cellularité était inférieure à 20% pour un des échantillons et 4 d'entre eux étaient des cancers du sein hormonodépendant. Aucune hyperméthylation de promoteur du gène BRCA1 et aucune mutation tumorale secondaire n'ont été trouvées pour ces cas.

**Conclusions:** L'analyse par pyroséquençage donne un résultat plus précis pour étudier la LOH du gène BRCA1. En outre, l'absence de LOH dans les tumeurs de porteuses de mutations causales soulève la question de savoir si la présence d'une mutation germinale est suffisante pour guider le choix du traitement. L'analyse de la signature BRCAness nous aidera à clarifier cette question, notamment pour identifier l'implication des gènes *BRCA1* dans la tumorigenèse et de mieux comprendre les caractéristiques des tumeurs sans LOH. Dans au moins 10% des familles étudiées, un variant de signification inconnue (VSI) est identifié. L'étude de la LOH pourrait être utilisée pour prédire la pathogénicité des variants.

## ONCOGÉNÉTIQUE

### #3435 : Évaluation de l'impact fonctionnel des variants constitutionnels des gènes BRCA1/2 situés dans des régions non-codantes identifiés dans des familles avec une prédisposition au cancer du sein et de l'ovaire

#### Auteurs :

Elizabeth Santana Dos Santos (1), Sandrine Caputo (2), Laurent Castera (3), Adrien Briaux (4), Sophie Krieger (3), Claude Houdayer (2), Ivan Bieche (4), Dominique Vaur (3), Dominique Stoppa-Lyonnet (2), François Lallemand (4), Etienne Rouleau (2)

1. Oncology, Hospital Sirio Libanes, São Paulo, Brazil, Brésil
2. Génétique, Institut Curie, PARIS, France
3. Laboratoire de biologie et de génétique du cancer, INSERM 1079 - Centre Normand de Génomique et de Médecine Personnalisée, CLCC François Baclesse, Caen, France
4. Génétique, Institut Curie, Paris, France

**Mots clefs :** BRCA1/2 - régions non-codantes - régulation d'expression - promoteur

#### Résumé :

Contexte: Le mécanisme moléculaire de susceptibilité au cancer reste flou pour la majorité des patients atteints de cancer du sein / ovaire. Le criblage des gènes BRCA1 et BRCA2 identifie une mutation causale dans moins de 15% des familles testées. Même si certaines mutations germinales dans les régions régulatrices non codantes de ces gènes ont été décrites, le criblage de ces gènes est encore limitée à des régions codantes et les jonctions intron-exon. Le but de cette étude était d'évaluer la contribution potentielle des variants non-codants sur l'activité du promoteur des gènes BRCA1/2. Ce travail devait évaluer leur impact potentiel sur le risque de cancer.

Méthodes: Les variants testés ont été sélectionnés à partir de la base de données ENIGMA (réseau international pour l'interprétation des variants de signification inconnue) et du criblage de 2 cohortes de patients BRCA1 /2 négatif et dont l'histoire personnelle/familiale suggérait une prédisposition forte au cancer du sein/ovaire - soit 400 et 1968 cas étudiés. Ce criblage a été réalisé sur 4 régions non codantes BRCA1/2 (régions promotrices et introniques). L'impact des variants sur l'expression des gènes BRCA1/2 du gène a été testé in vitro, après transfection transitoire dans des cellules MCF-7 et MDA-MB231 par luciférase assay.

Résultats: 12 variants de BRCA1 et 8 variants de BRCA2 ont été identifiés et évalués. Deux variants de BRCA1 (promoteur et intron 2) et deux variants de BRCA2 (promoteur) augmentaient l'activité du promoteur. Un variant de BRCA2 situé dans le promoteur a également montré une réduction significative du niveau de transcription. Trois variants de BRCA1 avaient un impact répresseur significatif sur l'activité du promoteur. Ces trois variants se situent sur une région promotrice du gène BRCA1 comprenant un site putatif de liaison au facteur de transcription DP1/E2F1. Des essais de LOH et d'étude de déséquilibre allélique ont été réalisés sur deux de ces variants. Les résultats sont favorable à l'implication d'un variant BRCA2 (déséquilibre allélique), mais défavorable à un variant BRCA1. Notre test fonctionnel n'a pas montré d'impact sur l'activité pour les autres variants.

Conclusions: Grâce à la luciférase assay, nous avons identifié 8 variants rares sur des régions non codantes avec un impact significatif sur l'activité du promoteur des gènes BRCA1/2. Des études complémentaires sont nécessaires pour conclure sur la causalité de ces variants. Cette approche nous a permis de prioriser les variants identifiés sur des régions non codantes.

## ONCOGÉNÉTIQUE

### #3445 : Un circuit spécifique pour les patientes atteintes d'un cancer de l'ovaire pour un rendu optimal des résultats : expérience du Centre Antoine Lacassagne

#### Auteurs :

veronique Mari (1), Swan Bagge (1), Béatrice De Clercq (1), Gérard Lesbats (2), Jérôme Barrière (3), cornel Popovici (4), Audrey Remenieras (4), Hagay Sobol (4)

1. Oncogenetique, Centre Antoine Lacassagne, Nice, France
2. oncologie, Clinique du Parc Impérial, Nice, France
3. oncologie, Polyclinique St Jean, Cagnes/mer, France
4. Oncogenetique, Institut Paoli-Calmettes, Marseille, France

**Mots clefs :** Ovaire, olaparib, consultation oncogénétique, BRCA,

#### Résumé :

L'arrivée de l'Olaparib dans le traitement du cancer de l'ovaire a nécessité la création d'un circuit spécifique en oncogénétique pour répondre en un temps adapté aux possibles indications thérapeutiques de ce traitement. La consultation d'oncogénétique du Centre Antoine Lacassagne a informé ses partenaires d'adresser toute patiente susceptible de bénéficier de ce traitement, au mieux dès le diagnostic et avec résultats anatomo-pathologiques. Une demande de rendu en urgence des résultats d'analyse BRCA était proposée en cas de récurrence. De Février à septembre 2015, 61 patientes ont été reçues dans un délai de 10 jours calendaires. 60 patientes ont bénéficié d'un test moléculaire, le délai de rendu de résultat du laboratoire était sous 3 mois en cas d'urgence thérapeutique ou standard (médiane de rendu à 20 mois). La patiente était reçue en consultation en urgence pour rendu, à défaut le médecin est contacté pour une prise en charge adaptée.

Le laboratoire s'est adapté à la demande avec un délai médian de rendu de 50 jours, délai maximum à 128 jours. Les patientes ont reçu leurs résultats avec un délai médian de 70 jours, délai maximum de 150 jours. 38 rendus ont été effectués dont 11 avec mutation délétère (6 BRCA1 et 5 BRCA2) soit une prévalence de 28.2 %. Pour ces 11 patientes, on retrouve les critères recommandés pour l'indication d'un test moléculaire. Pour 8 d'entre elles, elles auraient pu bénéficier d'une consultation oncogénétique depuis au moins 2 ans. Concernant les mutations BRCA1, le Manchester est au minimum à 14 % avec un âge maximum au diagnostic de 60 ans, on retrouve 2 cas isolés de cancer de l'ovaire. Concernant les mutations BRCA2, le Manchester est au minimum à 10 % avec un âge maximum au diagnostic de 70 ans, aucun cas isolé de cancer de l'ovaire. 22 résultats sont en attente dont 18 patientes répondant aux critères d'analyse BRCA. 7 patientes sur ces 18 auraient pu bénéficier d'une consultation plus précocement. Les patientes semblent être adressées plus systématiquement et ce dès le diagnostic. 6 patientes ont bénéficié d'une analyse hors critères d'indication requis. Pour 2 d'entre elles, les résultats sont disponibles et non contributifs.

Le laboratoire de l'Institut Paoli Calmettes a su répondre à nos demandes d'analyse en urgence et les résultats ont pu être rendus dans le délai imparti pour initier un traitement par Olaparib. La prévalence des mutations BRCA dans notre étude évoque un défaut d'information des médecins sur les critères d'indication de consultation d'oncogénétique et de ce fait un sous diagnostic des familles porteuses de mutations délétères. Cette situation devrait s'améliorer au vu de l'impact thérapeutique du dépistage moléculaire. Cela permettra une meilleure collaboration entre les équipes médicales et les consultations d'oncogénétique. On peut espérer que cela impacte également le dépistage des autres syndromes de prédisposition aux cancers.

## ONCOGÉNÉTIQUE

### #3448 : Mise en place d'une réunion collégiale d'évaluation des familles de type sein-ovaire sans mutation constitutionnelle de BRCA1/2 identifiée : l'expérience du Centre Léon Bérard

#### Auteurs :

Sandrine Handallou (1), Amel Tsalamlal (1), Christine Rousset-Jablonski (2), Valérie Bonadona (1), Christine Lasset (1), Elodie Pleyne (3), Carole Bayle (4), Amélie Allauze (4), Sophie Dussart (1)

1. Unité Clinique d'Oncologie Génétique, CLB, Lyon, France
2. Département de chirurgie, CLB, Lyon, France
3. Unité de Gestion des Bases de Données Institutionnelles, , Lyon, France
4. Unité de Prévention et d'Epidémiologie Génétique, CLB, Lyon, France

**Mots clefs :** Analyses BRCA1 et BRCA2, evaluation risque post-analyse, recommandations, cancer sein , cancer ovaire

#### Résumé :

L'analyse constitutionnelle des gènes BRCA1/2 dans les familles où l'on suspecte un syndrome sein-ovaire permet l'identification d'une mutation délétère chez 15 à 20% des cas index. Les membres de la famille porteurs de la mutation familiale bénéficient alors d'une prise en charge spécifique selon les recommandations de l'INCa. En revanche, en l'absence d'identification de mutation, les recommandations de surveillance mammaire et de chirurgie préventive ovarienne sont laissées à l'appréciation de l'oncogénéticien, en fonction de la probabilité estimée de développer un cancer du sein et/ou de l'ovaire et de l'histoire familiale.

Pour permettre d'adapter au mieux la surveillance de ces familles, des réunions d'évaluation associant oncogénéticiens, gynécologues et conseillers en génétique ont été mises en place au Centre Léon Bérard afin de classer ces familles de manière collégiale, en niveau de risque « élevé » ou « très élevé », d'après les recommandations HAS de mars 2014 . L'évaluation des familles est basée sur les scores Bonaïti, Eisinger, et les probabilités estimées sous le logiciel BOADICEA (Lee et al. BJC 2014) : probabilités de mutation pré et post analyses, risques cumulés de cancer (RCC) du sein et de l'ovaire à 10 ans et 70 ans, ainsi que sur l'analyse de la structure familiale.

Une fiche synthèse mentionnant le niveau de risque de la famille est élaborée et précise les recommandations de prise en charge, pour le cas index et ses apparentés au 1<sup>er</sup> et 2<sup>nd</sup> degré, qui sont transmises au cas index lors de la consultation de rendu de résultats. Il est également déterminé une conduite à tenir pour la famille : analyses d'un autre gène voire de panels de gènes, analyses chez un second cas index, consultation de suivi à prévoir à court terme...

Depuis le 16/03/2015, 90 familles BRCA1/2 négatives ont été évaluées. Respectivement, 64 et 23 familles ont été classées en risque élevé et très élevé, et 3 familles n'ont pas pu être classées.

Parmi les 23 familles classées en risque très élevé, 5 familles (21.8%) ont un RCC du sein à 70 ans inférieur à 20%, mais pour 4 d'entre elles, le score Eisinger est supérieur à 8 et pour la 5<sup>ème</sup>, le cas index présente une probabilité de mutation résiduelle de 10% et un RCC du sein à 10 ans de 7%.

En raison de structures familiales particulières (taille réduite et/ou apparentés très jeunes) ou de probabilités de mutation résiduelle élevées chez un apparenté devant faire discuter la possibilité d'un 2<sup>ème</sup> cas index, il n'a pas été possible de statuer sur le classement HAS de 3 familles qui seront discutées en réunion de concertation pluridisciplinaire d'oncogénétique.

Cette réunion d'évaluation a permis de standardiser le classement des familles BRCA1/2 négatives selon les catégories de risques définies par les recommandations HAS 2014 et de reclasser 5 familles (5.6%) ayant un RCC du sein à 70ans < 20% en risque très élevé. Cette évaluation collégiale permet de définir de prise en charge adaptée à chaque famille.

## ONCOGÉNÉTIQUE

### #3449 : P.UMA: Panel for Uveal Melanoma Alterations, vers un diagnostic génomique intégré

#### Auteurs :

Khadija AIT RAIS (1), Delphine LEQUIN (1), Manuel RODRIGUES (2), Nathalie CASSOUX (3), Laurence DESJARDINS (3), Olivier DELATTRE (1), Gaelle PIERRON (1)

1. Unité de génétique somatique, Institut Curie, Paris, France
2. Médecin oncologie, Institut Curie, Paris, France
3. Médecin ophtalmologie, Institut Curie, Paris, France

**Mots clefs** : mélanome uvéal, mélanome choroïdien, NGS, mutation, séquençage, profil génomique, CGH-Array, puce à ADN, diagnostic, pronostic, GNAQ, GNA11, SF3B1, EIF1AX

#### Résumé :

Le mélanome uvéal est le cancer de l'œil le plus fréquent chez l'adulte. Il est invisible de l'extérieur, et peut se manifester par l'apparition brutale de troubles de la vue. Quelques 500 à 600 nouveaux cas par an, sont recensés en France.

Les maladies localisées peuvent être traitées par des traitements conservateurs comme la proton-thérapie ou la Curiethérapie, mais dans 50% des cas, le mélanome uvéal présente une évolution métastatique, le plus souvent hépatique, pour lequel le pronostic reste défavorable avec une médiane de survie allant de 6 à 9 mois.

L'âge du patient, le diamètre ou encore le type histologique de la tumeur, sont des facteurs de risques cliniques, clés de la prise en charge du patient. Des facteurs biologiques ont aussi été mis en évidence comme la perte totale du chromosome 3 ou le gain du chromosome 8q, initialement par des techniques de cytogénétique classiques comme le caryotype, puis grâce aux techniques de biologie moléculaire. Le développement et l'utilisation en routine diagnostique de puces de CGH, hautement résolutive et très sensibles, permet donc d'évaluer le caractère métastatique du mélanome uvéal, en se basant sur la classification du Dr Cassoux (Cassoux N, et al. *Br J Ophthalmol* 2013).

Depuis 2013, près de 520 CGH ont pu être réalisées à partir de tumeurs ou de ponctions transvitréennes. La majorité de ces cas ont pu bénéficier de cette classification en 3 groupes pronostiques: les cas à bas risque (Disomie 3/8 Normal), risque intermédiaire (Monosomie 3/8 Normal ou Disomie 3/8 Gagné) ou haut risque métastatique (Monosomie 3/8 Gagné). Cependant, certains cas peuvent rester inclassés car ils présentent un profil génomique plat, pouvant témoigner d'un trop faible pourcentage de cellules tumorales ou d'un cas atypique. Or, les gènes GNAQ et GNA11 sont mutés dans plus de 90% des mélanomes uvéaux, un séquençage Sanger permet donc de statuer sur le caractère tumoral ou non de ces prélèvements, permettant de confirmer le diagnostic initialement posé ou de définir le prélèvement comme étant non contributif. Par ailleurs, d'autres biomarqueurs tels que les gènes EIF1AX ou encore SF3B1, sont d'intérêt clinique car ce sont des marqueurs de bon pronostic.

La création d'un outil de NGS dédié intégrant à la fois l'évaluation du statut génomique (chr3 et 8) et mutationnel de gènes clés pour la prise en charge du patient, nous est donc apparue comme une évidence. Ainsi le panel P.UMA (Panel for Uveal Melanoma Alterations), nous permettra d'optimiser notre approche de diagnostic moléculaire tout en faisant évoluer notre méthode de détection en respectant les contraintes de la routine hospitalière en terme de coûts, de délais et d'informativité clinique.

## ONCOGÉNÉTIQUE

**#3456 : Validation et mise en place du criblage somatique des gènes BRCA1/2 dans les adénocarcinomes séreux de haut grade de l'ovaire en vue d'un traitement par un inhibiteur de PARP1**

### Auteurs :

Camille Benoist (1), Elsa Hua (1), Adrien Briaux (1), Virginie Moncoutier (1), Céline Callens (1), Marie Piccot (1), Catherine Nogues (1), Anne Vincent Salomon (2), Dominique Stoppa-Lyonnet (1), Claude Houdayer (1), Ivan Bièche (1), Rouleau Etienne (1)

1. service de génétique, Institut Curie, Paris, France
2. service d'anatomopathologie, Institut Curie, Paris, France

**Mots clefs :** BRCA1, BRCA2, FFPE, somatique

### Résumé :

**Introduction :** L'olaparib, un inhibiteur de PARP1, peut être utilisé en traitement de maintenance après une rechute chez les patientes BRCA1/2 mutées atteintes d'un cancer de l'ovaire qui répond aux traitements à base de sel de platine. Un circuit spécifique a été mis en place à l'Institut Curie à partir de mai 2015 pour poser au mieux l'indication de cette recherche avec une validation systématique des dossiers en RCP gynécologique. Pour les cancers de l'ovaire au diagnostic, une orientation vers la consultation d'oncogénétique est proposée en urgence pour criblage complet par un panel NGS comprenant BRCA1 et BRCA2. Dans le cas d'absence de mutations constitutionnelles, la tumeur est étudiée à la recherche de mutations somatiques.

**Matériel, population et méthodes :** Après extraction de l'ADN des blocs inclus en FFPE, un enrichissement PCR est réalisé à l'aide du kit GenRead BRCA1/2 (Qiagen, France). Le séquençage est réalisé sur MiSeq (Illumina, France) sur des flowcells V2 en paired-end 150 pb. L'analyse de variants mise en place est basée sur les outils de détection de variants VarScan et pindel. Une étude de détection des CNV (Copy Number Variation) a également été développée en deux approches : (i) normalisation simple (par échantillon et par amplicon) des profondeurs de couverture issues des données de séquençage, et (ii) une confirmation par MLPA. 13 séries d'échantillons ont été séquencées, chacune comprenant jusqu'à 12 échantillons, dont 2 ADN contrôles inclus systématiquement. Au total, 147 analyses ont été réalisées (sur 114 échantillons différents). 58 échantillons ont été étudiés dans le cadre de la RCP Gynécologique et 18 échantillons étaient inclus dans un essai clinique. Les autres échantillons comprenaient des contrôles mutés nous permettant de tester et de valider la méthode d'enrichissement ainsi que notre pipeline d'analyse.

**Résultats :** Une couverture complète de plus de 300 X des deux gènes est obtenue par cette approche. Nous avons pu identifier 3 mutations somatiques non retrouvées sur les prélèvements sanguins. Un unique échantillon sur les 58 a été rendu non contributif principalement à cause d'un défaut de couverture.

**Discussion et conclusion :** Nous avons pu mettre en place à la fois un circuit et une méthode d'analyse qui répondent à la demande des analyses moléculaires des cancers de l'ovaire. Le faible taux de mutations identifiés est cohérent avec la littérature – ici 6 % pour des mutations somatiques qui représentent 1/3 des altérations de ces deux gènes. La détection des grands réarrangements reste limitée aux ADN FFPE d'excellente qualité. Ces résultats montrent qu'il est possible de réaliser ce criblage sur du matériel FFPE dégradé et que l'interaction entre la génétique constitutionnelle et somatique est clairement indispensable pour l'efficacité de ce circuit.

## ONCOGÉNÉTIQUE

### #3457 : Base UMD des variants alléliques du gène MEN1 : une analyse de 437 variants

#### Auteurs :

Amira Mohamed (1), Pauline ROMANET (1), Sophie Giraud (2), Alain Calender (3), Eric Pasmant (4), Eric Clauser (4), Marie-odile North (4), Pascal Pigny (5), Marie-Françoise Odou (5), Françoise Borson-chazot (6), Christophe Beroud (7), Anne BARLIER (8), TENGEN GROUPE (9)

1. Laboratoire de biologie moléculaire, APHM, Hôpital la Conception, 13385 Marseille, France, marseille, France
2. Service de génétique Moléculaire et Clinique, Hôpital E. Herriot, Lyon, France
3. Service de génétique Moléculaire et Clinique, Hôpital E. Herriot, Lyon, France
4. Service de Biochimie et Génétique Moléculaire, Hôpital Cochin, Paris, France
5. Laboratoire de Biochimie et Biologie Moléculaire, CHRU de Lille, Lille, France
6. Service d'endocrinologie, Hospices civils de Lyon - Hôpital Louis Pradel, Lyon, France
7. Génétique Médicale et Génomique Fonctionnelle, Aix Marseille Université, 13344, Marseille, France, Marseille, France
8. Laboratoire de biologie moléculaire, APHM, Hôpital la Conception, 13385 Marseille, France, Marseille, France
9. Array, Array, Array,

**Mots clefs :** MEN1, VSI, Base de données, Variant

#### Résumé :

La Néoplasie Endocrinienne Multiple de type 1 (NEM1) est une maladie génétique héréditaire rare dont la prévalence est estimée entre 1/30 000 et 1/100 000. Le syndrome est défini par le développement chez un même individu de manière synchronisée ou non de tumeurs ou d'hyperplasie d'au moins deux glandes endocrines de type différent. La triade caractéristique comprend une hyperparathyroïdie, une tumeur neuroendocrine pancréatique et un adénome hypophysaire. Cependant, la pénétrance varie avec l'âge et l'expressivité de la maladie est extrêmement variable d'un individu à l'autre et à l'intérieur d'une même famille. Depuis la découverte du gène MEN1 en 1997 et son implication dans la NEM1, de nombreuses variations de séquence ont été mises en évidence. Le gène MEN1 situé sur le chromosome 11q13 code pour une protéine nucléaire ubiquitaire de 610 acides aminés nommée ménine. Le transcrit majoritaire de MEN1 possède 2 761 pb. La mise en évidence d'une mutation de MEN1 chez un individu a d'importante conséquence sur la prise en charge et le suivi et ouvre à la possibilité d'un conseil génétique pour les apparentés. Le spectre des variations de séquence mises en évidence et la fréquence importante des formes incomplètes de la maladie font de la classification des variants de signification inconnue un enjeu majeur pour les laboratoires d'oncogénétique. Un consortium national français mené par le groupe TEN-GEN sur un financement de l'Institut National du Cancer (INCa) a pour but de recenser l'ensemble des variations de MEN1 issue du reséquençage (classique et NGS) et de la recherche de réarrangements de grande taille (MLPA et QMPSF). Les données collectées sur l'ensemble des laboratoires de biologie moléculaire du réseau national INCa ont permis de recenser 437 variations de séquence portées par 1830 patients entre 5 et 88 ans. L'interprétation des variations a été réalisée selon une procédure standardisée intégrant les données génotypiques et phénotypiques. L'analyse bioinformatique a compris une recherche bibliographique large (Pubmed, HGMD database, UMD database), la consultation de logiciels de prédiction (Alamut, HSFinder, UMD Predictor) et la consultation systématique des bases de données de variants (dbSNP, ESP, 1000genomes, ExAC Browser). L'ensemble des variants de signification inconnue (VASI) ont été soumis à interprétation lors de réunions de concertation du groupe TEN-GEN, et classés en 5 catégories selon les recommandations internationales. L'ensemble des données sont hébergées par la base UMD et mis en ligne sur le site ([www.umd/Be/Men1](http://www.umd/Be/Men1)). Plusieurs zones de hot spot mutationnels ont été identifiées sur les exons 2 et 10, permettant à l'aide de corrélations phénotypiques de pallier à la méconnaissance de la structure et de la fonction protéique. La mise en commun des données de l'ensemble de laboratoires d'oncogénétique français font de cette base exhaustive la plus grande base mondiale de données génétiques pour la NEM1.

## ONCOGÉNÉTIQUE

**#3466 : Enjeux de la validation des résultats de NGS après criblage moléculaire pour la recherche de mutations somatiques sur pièce tumorale ou plasma**

### Auteurs :

Samia Melaabi (1), Camille Benoist (1), Chloé Derouet (1), Frédéric Maraone (1), Audrey Margogne (1), Mathieu Séné (1), Céline Callens (1), Ivan Bièche (1), Rouleau Etienne (1)

1. service de génétique, Institut Curie, Paris, France

**Mots clefs :** Séquençage haut débit, validation, réplicat

### Résumé :

**Introduction :** L'augmentation des marqueurs moléculaires en génétique somatique nécessite d'identifier des solutions dans les panels de séquençage haut débit (NGS). Issu de projets de recherche, la validation des résultats de NGS pour une application diagnostique est souvent peu développée et les limitations techniques empêchent d'obtenir une prise en charge comparable aux autres techniques de diagnostic. Il est pourtant nécessaire pour rendre un résultat de diagnostic de s'assurer de sa fiabilité. Pour la validation de la méthode NGS, nous avons mis en place une procédure d'analyse impliquant systématiquement un réplicat biologique, voire technique. Le but de ce travail est d'évaluer l'apport de ces réplicats.

**Matériel et méthodes :** Nous faisons le bilan de 273 échantillons passés en réplicat sur 52 séries. Pour 235 cas, les ADN étaient extraits de blocs inclus en paraffine. Dans le cadre de l'analyse d'ADN circulant, l'ADN de 38 prélèvements sanguins étaient extraits à partir d'un kit d'extraction d'ADN circulant. L'enrichissement était réalisé essentiellement avec le kit côlon-poumon (panel V1 et V2, Life Technology), et les librairies obtenues séquencées sur PGM avec une puce 318. Le processus d'analyse comprenait 3 volets : une analyse de variants (pipeline PGM modifié), une vérification des données filtrées des principaux gènes actionnables (*EGFR*, *KRAS*, *NRAS*, *BRAF*, *ERBB2*, *PIK3CA*) et une analyse des couvertures. Les amplicons des gènes actionnables avec moins de 300 X de couverture étaient séquencés en Sanger. Un algorithme décisionnel a été développé sur le système informatique du laboratoire pour classer les variants identifiés. De manière systématique, les fichiers de séquences ont été analysés pour les variants non retrouvés en réplicat.

**Résultats :** Sur les 273 échantillons passés en réplicat, 480 variants ont été identifiés : 226 vrais positifs (VP) répartis de la manière suivante : 125 pathogènes, 30 non pathogènes et 71 VSI, auxquels s'ajoutent 254 faux positifs (FP). 93 % des VP étaient retrouvés sur les réplicats, contre seulement 11 % pour les FP. Sur les 125 pathogènes, 8 cas (7 %) ont été retrouvés sur un seul réplicat, mais ont été confirmés après visualisation des séquences. Parmi les FP, 43 cas vus en réplicat correspondaient à des délétions-insertions sur des régions d'homopolymère liés à la technique.

**Discussion et conclusion :** Ce résultat montre la cohérence des réplicats sur cette technologie et leur intérêt dans la validation des résultats, en particulier pour confirmer de vraies mutations lorsqu'elles sont de faible fréquence. Il est à noter que 7 % des variants peuvent être non identifiés dans le cadre du pipeline bioinformatique mis en place. Le deuxième intérêt des réplicats est l'élimination des FP : 89 % des variants ont été classés FP par absence de reproductibilité. Ce résultat souligne l'importance des validations des résultats NGS et la limite d'étudier des échantillons FFPE sur une unique analyse.

## ONCOGÉNÉTIQUE

**#3470 : Cancer du sein chez l'homme: à propos de 14 patients reçus en consultation d'oncogénétique de 2012 à 2015 (Institut Curie, site de Saint-Cloud).**

### Auteurs :

Ophélie BERTRAND (1), Anne-Marie BIROT (1), Emmanuelle MOURET-FOURME (1), Claire SAULE (1), Claire SENECHAL (2), Catherine NOGUES (1)

1. Service de génétique, Institut Curie, Saint-Cloud, France
2. Département Oncogénétique et Gynécologie, Institut Bergonié, Bordeaux, France

**Mots clefs :** BRCA1, BRCA2, cancer sein homme, prédisposition génétique

### Résumé :

Le cancer du sein chez l'homme représente moins de 1% de tous les cancers du sein (soit moins de 500 cas par an en France) et moins de 1% des cancers masculins. Le risque cumulé sur la vie entière pour un homme de développer un cancer du sein est d'environ 0,1%, soit 100 fois moins qu'une femme de la population générale (pays occidentaux). Ce risque est augmenté en cas de prédisposition génétique associée aux gènes *BRCA1* et *BRCA2* pour atteindre à 80 ans 1,2% (IC95%: 0,22-2,8) pour *BRCA1* et 6,8%(IC95%: 3,2-12) pour *BRCA2*.

Ce cancer est plus fréquemment diagnostiqué chez les hommes de plus de 60 ans. La méconnaissance et la rareté de cette pathologie chez l'homme conduit souvent à un retard diagnostique.

14 hommes atteints d'un cancer du sein ont été reçus en consultation d'oncogénétique de 2012 à 2015 à l'Institut Curie à Saint-Cloud. Nous avons répertorié les données individuelles et familiales, le statut BRCA, les caractéristiques anatomopathologiques ainsi que les propositions thérapeutiques des patients de notre groupe d'étude.

L'âge moyen au diagnostic dans ce groupe est de 55,7 ans. Les âges de survenue se répartissent de façon homogène entre 41 et 74 ans, la médiane étant de 56,5 ans. Le délai moyen écoulé entre le diagnostic et la première consultation de génétique est de 3,3 ans.

Sur 13 patients ayant eu une analyse des gènes *BRCA1* et *BRCA2*, 4 sont porteurs d'une mutation délétère : 2 dans le gène *BRCA1*, 2 dans le gène *BRCA2*. Les patients porteurs d'une mutation *BRCA1* ont un âge au diagnostic plus précoce que ceux porteurs d'une mutation *BRCA2* (45 et 49 ans *versus* 55 et 60 ans).

Comme décrit dans la littérature, les caractéristiques anatomopathologiques (type histologique, grade nucléaire, expression des récepteurs hormonaux et statut Her2) des cancers du sein présentés par nos patients se rapprochent de celles observées dans les cancers du sein féminins post-ménopausiques. Il s'agit majoritairement de carcinomes canaux infiltrants de grade intermédiaire, exprimant les récepteurs hormonaux, sans surexpression de *Her2*.

Le traitement chirurgical consiste le plus souvent en une mastectomie radicale avec curage axillaire. Une demande de chirurgie prophylactique contralatérale, formulée par l'un des patients ayant présenté un cancer du sein à 45 ans, a été jugée recevable en RCP de génétique en raison de son histoire personnelle et familiale et ce malgré un résultat d'analyse négatif.

Le cancer du sein chez l'homme étant rare, il constitue quel que soit l'âge une indication de consultation d'oncogénétique. Il est donc essentiel que les patients concernés soient systématiquement adressés en consultation afin d'apporter un conseil génétique adapté.

D'autres gènes, notamment *PALB2* et *CHEK2*, sont à ce jour décrits dans la littérature comme impliqués dans cette pathologie. Dans le cadre d'une approche en panel de gènes, le gène *PALB2* est désormais analysé dans un contexte diagnostique en complément des gènes *BRCA1* & 2 à l'Institut Curie.

## ONCOGÉNÉTIQUE

**#3493 : Amplification multiplex pour le diagnostic moléculaire des prédispositions au cancer du sein et de l'ovaire : de BRCA vers un panel de gènes.**

### Auteurs :

Erell Guillerm (1), Filipe Pires (1), Murielle Renard (1), Salim Bakas (1), Annie Dion-Miniere (1), Gaëlle Legrand (1), Anne Leroy (1), Marie-Christine Waill (1), Melanie Eyries (1), Veronica Cusin (1), Chrystelle Colas (1), Florent Soubrier (1), Florence Coulet (1)

1. Laboratoire d'Oncogénétique et Angiogénétique Moléculaire, Hôpitaux Universitaires La Pitié Salpêtrière-Charles Foix, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Université Pierre et Marie Curie, PARIS, France

**Mots clefs :** NGS, BRCA, Panel de gènes

### Résumé :

Parmi les patientes considérées comme à risque de prédisposition génétique au cancer du sein et de l'ovaire (score d'Eisinger égal ou supérieur à 3) et testées à l'issue de consultations de génétique, seules une minorité (10 à 12%) est porteuse des mutations génétiques sur les gènes *BRCA1* et *BRCA2*. Des mutations dans d'autres gènes de prédisposition, conférant des risques plus ou moins élevés, ont été décrites dans la littérature et sont parfois intégrées dans des syndromes rares de prédisposition. Grâce aux techniques de NGS, la recherche de mutations peut être étendue à de multiples gènes dans le cadre du diagnostic de routine. Nous avons implanté une évolution de la technologie d'amplification multiplex précédemment utilisée au sein du laboratoire. L'amplification de 26 gènes classés selon 3 niveaux de risque (faible, intermédiaire et élevé) est réalisée en 5 plex (BRCA Hereditary Cancer MASTR™ Plus, Multiplicom) générant 561 amplicons. Une 2<sup>e</sup> étape d'amplification permet d'incorporer les codes barres pour le multiplexage, ainsi que les adaptateurs de séquence spécifiques de la plateforme Illumina de séquençage (Miseq). L'analyse bioinformatique a été faite en parallèle au sein du laboratoire par le logiciel SeqNext (JSI Medical Systems), et par un prestataire de service d'analyse bioinformatique (GENODIAG). Les patients testés (n=72) sont répartis en 2 groupes : un groupe contrôle de 25 patients de génotypes connus, préalablement analysés dans le laboratoire et un groupe de 47 patients à haut risque selon les critères familiaux mais pour lesquels aucune mutation n'a été identifiée sur les gènes *BRCA1* et *BRCA2*. Parmi les 25 patients contrôles, 18 mutations ponctuelles ont été confirmées par la double analyse bioinformatique indépendante ; et la détection des 7 grands réarrangements a été possible en 2<sup>e</sup> intention mais reste d'interprétation difficile (faux positifs sur certains exons). Parmi les 47 patients à haut risque, des mutations délétères ont été identifiées à l'état hétérozygote dans 11% des cas (2 mutations *PALB2*, 2 mutations *ATM* et une mutation *MLH1*). Par ailleurs, 5 variants de signification inconnue (VSI) ont également été détectés parmi cette population sur différents gènes. Ces résultats soulignent l'intérêt d'une analyse génétique élargie qui a permis d'expliquer 11% de cas supplémentaires sur notre échantillon. *PALB2* et *ATM* sont impliqués parmi ces familles, confirmant l'intérêt de ces gènes dans la recherche des prédispositions. Par ailleurs, les problèmes d'interprétation des VSI ne feront que s'accroître dans le cadre des analyses de panels de gènes soulignant l'intérêt d'une base nationale répertoriant les variants de ces gènes. Cette technologie présente des limites inhérentes à la technologie de PCR (possibilité d'allèle-dropout, difficulté d'interprétation des grands réarrangements) mais permet un transfert facile et rapide de l'analyse génique restreinte vers un panel de gènes dans le cadre d'un diagnostic de routine.

## ONCOGÉNÉTIQUE

**#3509 : Implication de SOX4 dans la survenue précoce d'un néphroblastome dans un cadre syndromique.**

### Auteurs :

Aurélien Trimouille (1), Emmanuelle Barouk (2), Sabine Charon (3), Julie Bouron (1), Jean-Christophe Bernhard (4), Patricia Fergelot (1), Caroline Rooryck (1)

1. Génétique médicale, Hôpital Pellegrin - CHU Bordeaux, Bordeaux, France
2. Biopathologie, Institut Bergonié, Bordeaux, France
3. Laboratoire MRGM, EA4576, Université de Bordeaux, Bordeaux, France
4. Urologie, Hôpital Pellegrin - CHU Bordeaux, Bordeaux, France

**Mots clefs :** CGH-array, micro-délétion, SOX4, néphroblastome, palais ogival, déficience intellectuelle, Topological Association Domain

### Résumé :

Le néphroblastome est la tumeur rénale la plus fréquente dans l'enfance, survenant principalement entre 1 et 5 ans, avec un pic d'incidence à 3 ans et demi. Il s'agit le plus souvent d'un cancer de survenue sporadique, quoiqu'il peut être également observé dans un contexte syndromique, comme dans les syndromes WAGR ou de Denis-Drash.

Nous rapportons ici un cas de néphroblastome unilatéral apparu chez un patient à l'âge de 1 an, associé à quelques critères dysmorphiques, une fente palatine, un pli palmaire transverse unique et une déficience intellectuelle légère.

Nous avons réalisé une CGH-array pangénomique chez ce patient et identifié une délétion *de novo* de 389 kb en 6p22.3, qui emporte un unique gène codant, *SOX4*. Il s'agit d'un gène de 4,8 kb contenant un seul exon, et codant pour un facteur de transcription impliqué dans la neurogénèse et la néphrogénèse. Il a été montré que durant la néphrogénèse, *SOX4* est une cible de *WT1*, un facteur de transcription dont les mutations somatiques sont retrouvées dans environ 10% des néphroblastomes, et dont les mutations constitutionnelles, délétion ou mutations ponctuelles, sont impliquées dans les formes syndromiques de néphroblastomes. Le séquençage de *SOX4* par technique de Sanger dans le tissu tumoral n'a pas permis de détecter de mutations pouvant induire un processus d'oncogenèse, selon le modèle « double-hit » de Knudson. Par ailleurs, une CGH-array et un séquençage de *SOX4* ont été réalisés chez 3 autres patients ayant un néphroblastome dans un contexte d'antécédents familiaux de néphroblastomes, sans anomalie détectée. Nous avons également mesuré le niveau d'expression de *SOX4* dans le rein normal et dans la tumeur du patient, afin de tester les conséquences fonctionnelles cette délétion hétérozygote, et avons retrouvé une augmentation paradoxale de l'expression de *SOX4*. Cette augmentation laisse supposer l'existence d'un mécanisme de régulation agissant au niveau chromatinien, d'autant plus que cette délétion est localisée à la jonction de deux domaines d'association topologique (TADs). Un effet pathogène d'une délétion de ce type de jonction a déjà été décrit en pathologie humaine. D'autres investigations seront nécessaires afin de confirmer le rôle de *SOX4* en tant que gène de susceptibilité au néphroblastome. Mais à notre connaissance, il s'agit du premier cas décrit de néphroblastome associé à une délétion hétérozygote constitutionnelle de *SOX4*.

## ONCOGÉNÉTIQUE

**#3516 : Observatoire Français pur l'Etude du syndrome de Lynch OFELY: base clinico-biologique nationale et ressources biologiques dédiées à la recherche sur le syndrome de Lynch**

### Auteurs :

Christine LASSET (1), Sophie GRANDJOUAN (2), Géraldine PERKINS (3), Patricia FAURE (4), Chrystelle COLAS (5), Olivier CARON (6), Françoise DESSEIGNE (7), Julie TINAT (8), Yves Jean BIGNON (9), Dominique LEROUX (10), Laurence FAIVRE (11), Bruno BUECHER (12), Marie Agnès COLLONGE-RAME (13), Sandra FERT-FERRER (14), Jean Pierre FRICKER (15), Catherine NOGUES (16), Paul GESTA (17), Sophie GIRAUD (18), Isabelle COUPIER (19), Séverine AUDEBERT BELLANGER (20), Fabienne PRIEUR (21), Christine MAUGARD (22), Hélène DREYFUS (23), Alain LORTHOLARY (24), Sophie LEJEUNE-DUMOULIN (25), Véronique MARI (26), Pascal PUJOL (27), Odile BERA (28), Michel LONGY (29), Jean Christophe SAURIN (30), Stéphanie BAERT DESURMONT (31), Elodie PLEYNET (32), Hagay SOBOL (33), Pierre LAURENT-PUIG (34), Thierry FREBOURG (35), UNICANCER Genetics Group GGC (36)

1. Département de Santé Publique - UMR CNRS 5558, Centre Léon Bérard, LYON, France
2. , Groupe Hospitalier Cochin, APHP, PARIS, France
3. , Hopital Européen Georges Pompidou - APHP, PARIS , France
4. , UMR U614 INSERM, ROUEN, France
5. , Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, APHP, PARIS, France
6. , Intitut Gustave Roussy, VILLEJUIF, France
7. , CENTRE LEON BERARD, LYON, France
8. , Centre Hospitalier Universitaire , ROUEN, France
9. , CENTRE JEAN PERRIN , CLERMONT FERRAND , France
10. , Centre Hospitalier Universitaire, GRENOBLE, France
11. , Centre Hospitalier Universitaire, DIJON, France
12. , Institut Curie, PARIS, France
13. , Centre Hospitalier Universitaire, BESANCON, France
14. , Centre Hospitalier , CHAMBERY, France
15. , Centre Paul Strauss, STRASBOURG, France
16. , INSTITUT CURIE, HOPITAL RENE HUGUENIN, SAINT CLOUD , France
17. , Centre Hospitalier, NIORT, France
18. , Hospices Civils de Lyon HCL , LYON, France
19. , Centre Hospitalier Universitaire , MONTPELLIER, France
20. , Centre Hospitalier Universitaire, BREST, France
21. , Centre Hospitalier Universitaire, SAINT ETIENNE, France
22. , Hopitaux Universitaires de Strasbourg , StRASBOURG, France
23. , Clinique Sainte Catherine, , AVIGNON, France
24. , Centre Catherine de Sienne , NANTES, France
25. , Hopital Jeanne de Flandre, CHU, LILLE, France
26. , Centre Antoine Lacassagne , NICE, France
27. , Centre Hospitalier Universitaire, MONTPELLIER, France
28. , CHU de Martinique, FORT DE FRANCE, France
29. , INSTITUT BERGONIE, BORDEAUX, France
30. , Hospices Civils de Lyon, CHU, LYON, France
31. UMR U614 INSERM, Centre Léon Bérard, ROUEN, France
32. , Centre Léon Bérard, LYON, France
33. , INSTITUT PAOLI CALMETTES , MARSEILLE, France
34. , INSERM U775 - Hopital Européen Georges Pompidou, APHP, PARIS, France
35. , UMR U614 INSERM, Centre Hospitalier Universitaire, ROUEN, France
36. Array, Array, Array, France

**Mots clefs :** syndrome de Lynch, gènes MMR, cancer colorectal, cancer endomètre, registre, ADNthèque, tumorothèque

### Résumé :

Le Syndrome de Lynch (SL) est une prédisposition héréditaire au cancer colorectal (CCR) et au cancer de l'endomètre liée à la transmission autosomique dominante d'un gène MMR (MLH1, MSH2, MSH6 ou PMS2)

muté. Il est suspecté en présence des critères familiaux Amsterdam I/II et/ou de phénotype tumoral avec instabilité des microsatellites (MSI).

Les recherches sur le SL concernent les pénétrance liées aux différents gènes MMR, les facteurs modificateurs des risques tumoraux - génétiques notamment -, le pronostic des tumeurs associées au SL et l'adhésion à la prise en charge préventive conseillée.

Pour faciliter ces travaux, le projet OFELY vise à créer une base de données clinico-biologique nationale sur le SL à laquelle seront associées deux biobanques (ADN constitutionnel et échantillons tumoraux). Il est soutenu par l'INCa et réalisé sous l'égide du Groupe Génétique et Cancer avec la participation des centres d'oncogénétique cliniques et des laboratoires chargés des analyses génétiques..

Dans un premier temps, les familles porteuses d'un SL confirmé par l'identification d'une mutation clairement délétère d'un gène MMR sont enregistrées rétrospectivement à partir de la personne cas-index (personne ayant réalisé les analyses MMR initiales) vue en consultation dans le centre participant. Le recueil de données concerne la caractérisation du SL et pour le cas-index et chacun de ses apparentés de 1er, 2ème et 3ème degré dans la branche d'hérédité : le statut mutationnel (test ciblé positif, négatif, non fait), le statut tumoral (dates et types de cancers), le statut vital et la prise en charge préventive réalisée. Les informations sont recueillies à partir des arbres généalogiques et des dossiers d'enquête génétique. Les références des échantillons ADN et tumoraux sont saisies pour constituer des banques.

Une procédure d'information simple du cas-index a été acceptée par la CNIL sous conditions d'un enregistrement non identifiant des données.

Dans un 2<sup>ème</sup> temps, les échantillons d'ADN seront centralisés à Rouen (UMR U614 INSERM) et les échantillons tumoraux à Paris (INSERM U775).

Une plateforme Web multi-utilisateur a été développée pour faciliter le recueil des données et l'interopérabilité entre la base de données clinique et les biobanques.

Au 30/10/2015, 36 des 44 centres participants sont activés. Au total, 851 familles ont été enregistrées correspondant à 17180 individus dont 4770 sont atteints de cancer et 2280 sont porteurs d'un gène MMR muté. Sont disponibles pour les banques : 2080 échantillons d'ADN d'individus « mutés » et 963 échantillons tumoraux dont 562 CCR.

L'objectif est de collecter d'ici fin 2016, 1500 familles, 3500 échantillons d'ADN muté et 800 échantillons de CCR ; ce qui constituera une des plus importantes bases clinico-biologiques sur le SL accessible pour des travaux de recherche. .

Un accès aux ressources cliniques ou biologiques est prévu avec examen des demandes par le Comité Scientifique OFELY.

## ONCOGÉNÉTIQUE

### #3521 : Mutation JAK2 V617F et score de l'OMS: utilité dans le diagnostic de la polyglobulie de Vaquez dans une cohorte de patients béninois

#### Auteurs :

Simon AZONBAKIN (1), Anatole LALEYE (1), Marius ADJAGBA (1), Raphael DARBOUX (1), Bienvenu HOUSSOU (2), LUDOVIC ANANI (2), ROMARIC MASSI (2), Justin DEHOUMON (2)

1. laboratoire de cytogénétique et Biologie moléculaire, Faculté des Sciences de la Santé, COTONOU, Bénin  
2. Service des Maladies du SANG, Centre NATIONAL hOSPITALIER ET UNIVERSITAIRE HKM DE COTONOU, COTONOU, Bénin

**Mots clefs :** JAK2 V617F , polyglobulie de Vaquez, syndromes myéloprolifératifs

#### Résumé :

##### **RESUME :**

La découverte en 2005 de la mutation V617F du JAK2, responsable d'une hypersensibilité des précurseurs hématopoïétiques aux facteurs de croissance, est une avancée importante dans la compréhension des syndromes myéloprolifératifs. Elle a amené l'OMS à réviser en 2008 les critères de diagnostic de la PV en y incluant ce marqueur moléculaire comme critère majeur de diagnostic. Notre étude s'est intéressée aux mutations JAK2 V617F et à l'utilité du score de l'OMS dans le diagnostic de la polyglobulie de Vaquez au sein d'une cohorte de patients béninois.

**Patients et méthodes:** L'étude a porté sur 43 patients . la mutation a été détectée par PCR ARMS. Les critères diagnostics de la polyglobulie de VAQUEZ selon l'OMS ont été revus.

**Résultats.** L'incidence de la mutation V617F JAK2 dans la polyglobulie de vaquez est de 13%. Le score de l'OMS n'est pas applicable à l'ensemble de nos patients. La faible prévalence de la mutation dans notre cohorte nous amène à émettre l'hypothèse de la prédominance d'anomalies moléculaires autres que la mutation JAK2 V617F dans notre population. Ces patients positifs pour JAK2 V617F présentent quelques particularités cliniques notamment la prépondérance d'événements thrombo-emboliques.

**Conclusion.** – Notre étude est la première à évaluer la mutation JAK2 V617F chez des patients porteurs d'une polyglobulie au Bénin. Elle mérite d'être poursuivie afin de mieux cerner les particularités clinico-biologiques de cette mutation au sein des syndromes myéloprolifératifs en général.

## ONCOGÉNÉTIQUE

### #3522 : Incidence élevée des anomalies chromosomiques de mauvais pronostic dans la leucémie lymphoïde chronique : valeur pronostique : une étude monocentrique en Algérie

#### Auteurs :

Souad Taoussi (1), Hamida Brahimi (1), Salima Oukid (1), Nawel Cherfi (2), Khadidja Bouzourine (2), Mohand Tayeb Abad (1)

1. Hématologie, EHS ELCC CAC, Université Blida I Soumaa , Blida, Algérie
2. Hématologie, EHS ELCC CAC, Blida, Algérie

**Mots clefs :** LLC, cytogenetique , FISH, del P53

#### Résumé :

##### Introduction

Les anomalies chromosomique de mauvais pronostic (del 17p et del ATM et trisomie 12) dans la leucémie lymphoïde chronique (LLC) sont relativement faibles dans les séries européennes. Pour évaluer le profil cytogénétique des LLC dans notre région, une Hybridation in Situ Fluorescente (FISH) a été systématiquement conduite. L'objectif principal était d'identifier les anomalies cytogénétiques de mauvais pronostic : del P53 et del ATM et trisomie 12.

##### Matériels et méthodes

Etude prospective sur 9 ans ayant inclus 172 patients, jamais traités, présentant une LLC confirmée. Après un prélèvement sanguin sur héparine lithium, une culture de 72 h avec mitogènes (IL2, DSP30) est réalisée. Une FISH (sondes locus 6q21, 11q22, CEP12, 13 q14q34 et 17p13) a été systématiquement pratiquée au diagnostic. Au minimum, 200 noyaux et 20 mitoses sont analysés.

##### Résultats

Il s'agit de 42 femmes et 130 hommes, sex ratio = 3. Age moyen : 63 ans (37 – 89). Stades de Binet : A : 45 (26,2%), B : 53 (30,8%), C : 74 (43%). La FISH a retrouvé des anomalies récurrentes chez 142 pts (82,5 %) réparties en : del (13q 14) dans 85 cas (49,4%) dont 50 cas (58,8%) isolée, trisomie 12 dans 43 cas (25%) dont 29 cas (67,4) isolée , del (ATM) dans 29 cas (16,9%) dont 8 isolée (27,6%), del (P53) dans 24 cas (14%) dont 5 isolée (20,8%) , del (6q 21) dans 17 cas (9,9%) isolée dans 2 cas. La médiane de survie globale est de 97 mois pour les del 13q14 isolées, de 60 mois pour les pts ne présentant aucune anomalie, de 57 mois en cas de del ATM, de 58 mois en cas de Tri 12 et de 25 mois en cas de del P53 = ( $p = 0,00001$ ).

##### Discussion

La fréquence des anomalies récurrentes rejoint celle de la littérature. (82,5% vs > 80%). La del 13q14 est moins fréquente (49,4% vs 55 à 63%) en raison de la fréquence particulièrement faible des stades A et celle élevée des stades C dans notre série, stade C où cette délétion est moins rapportée. Les fréquences de la trisomie 12 (25% vs 13 à 25%), et de la del ATM (16,9% vs 11 à 18%) rejoignent celles de la littérature. La del ATM est retrouvée quasi exclusivement dans les stades B et C. La fréquence de la del P53 est plus élevée dans notre étude (14 % vs 7%) par rapport à la série historique de Dohner ( $p = 0,015$ ). Cela est certainement lié à la fréquence particulièrement élevée des stades C dans notre série (43%), stades dans lesquels ces délétions sont prédominantes (62,5% dans notre étude). La del 6q21 est aussi plus fréquemment retrouvée dans notre travail (9,9% vs 7%) le plus souvent associée. Les survies les plus courtes sont retrouvées parmi les pts présentant une del P53, une del ATM et une trisomie 12. La meilleure survie (97 mois) est retrouvée en cas de del 13q14 isolée.

##### Conclusion

La FISH est une méthode fiable pour identifier les principales anomalies récurrentes dans la LLC. Nos données révèlent la fréquence particulière de la délétion P53 dans notre étude, avec une survie globale considérablement raccourcie (médiane = 25 mois).

**Pièce jointe :** Incidence élevée des anomalies chromosomiques de mauvais pronostic dans la leucémie lymphoïde chronique.doc

## ONCOGÉNÉTIQUE

### #3537 : Le saut complet de l'exon 3 du gène BRCA2 confère un haut risque de cancer du sein et/ou de l'ovaire

#### Auteurs :

Sandrine CAPUTO (1), Francesca Damiola (2), Mélanie Leone (3), Asa Ehlen (4), Pascaline Gaildrat (5), Alexandra Martins (5), Rita Brandao (6), Ana Peixoto (7), Ana Vega (8), Claude Houdayer (1), Capucine Delnatte (9), Myriam Bronner (10), Danièle Muller (11), Laurent Castera (12), Marine GUILLAUD-BATAILLE (13), Inge Søkilde Pederson (14), Nancy Uhrhammer (15), UGC Sous-groupe des laboratoires du Groupe Génétique e (16), Uffe Birk Jensen (17), Ambre Petitalot (1), Sophie Krieger (12), Cédric Lefol (1), Virginie Moncoutier (1), Nadia Boutry-Kryza (3), Henriette Roed Nielsen (18), Olga SININILKOVA (19), Dominique Stoppa-Lyonnet (1), Aura Carreira (4), Manuel Teixeira (20), Florence Coulet (21), Mads Thomassen (22), Etienne Rouleau (1)

1. Génétique, Institut Curie, Paris, France
2. , Centre Léon Bérard, Lyon, France
3. Unité Mixte de Génétique Constitutionnelle des Cancers Fréquents, Hospices Civils de Lyon - Centre Léon Bérard, Lyon, France
4. Stress génotoxiques et Cancer, Institut Curie, Orsay, France
5. Inserm UMR 1079, UFR de Médecine et Pharmacie, Rouen, France
6. , Maastricht University, Maastricht, France
7. Department of Genetics, Portuguese Oncology Institute, Porto, Portugal
8. Genomic Medicine Group, Fundación Pública Galega de Medicina Xenómica-SERGAS, Santiago de Compostela, Espagne
9. Service de Génétique médicale, CHU Nantes, Nantes, France
10. Service de Génétique, CHU Nancy Brabois, Nancy, France
11. Laboratoire d'Oncogénétique, Centre Paul Strauss, Strasbourg, France
12. Laboratoire de biologie et de génétique du cancer et INSERM 1079 Centre Normand de Génomique et de Médecine Personnalisée, CLCC François Baclesse, Caen, France
13. , Institut Gustave Roussy, Villejuif, France
14. Section of Molecular Diagnostics, Department of Clinical Biochemistry, Aalborg University Hospital, Aalborg, Danemark
15. Laboratoire de Biologie Médicale, CLCC Jean Perrin, Clermont-Ferrand, France
16. , Unicancer, Paris, France
17. Department of Clinical Genetics, Aarhus University Hospital, Aarhus, Danemark
18. Department of Clinical Genetics, Vejle Hospital, Odense, Danemark
19. Unité Mixte de Génétique Constitutionnelle des Cancers Fréquents, Hospices Civils de Lyon - Centre Léon Bérard, Paris, France
20. Institute of Biomedical Sciences, University of Porto, Porto, France
21. Laboratoire d'oncogénétique et d'angiogénétique, Groupe hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France
22. Department of Clinical Genetics, Odense University Hospital, Odense, Danemark

**Mots clefs :** BRCA2, exon 3, cancer du sein et des ovaires, PALB2

#### Résumé :

Les variants délétères affectant le gène *BRCA2* sont associées à un risque cumulé à l'âge de 70 ans de 50-60% de cancer du sein et de 10-20% de cancer de l'ovaire. Les mutations identifiées sont majoritairement classées comme causales lorsqu'elles conduisent à une fin prématurée de la traduction. Cependant, dans un grand nombre de cas, le variant identifié est rare et de signification clinique inconnue (VSI). Le gène *BRCA2* comprend plusieurs domaines fonctionnels notamment au niveau de l'exon 3 qui interagit avec la protéine PALB2, impliquée comme BRCA2 dans la réparation de l'ADN et faisant le lien avec BRCA1. L'exon 3 est un exon en phase avec les exons 2 et 4. Il existe un transcrit alternatif de *BRCA2* physiologique et faiblement représenté sans exon 3. Théoriquement, la protéine BRCA2 pourrait être traduite sans exon 3 conservant les domaines indispensables à la réparation de l'ADN. Plusieurs VSI du gène *BRCA2* conduisent à une perte complète de l'exon 3 au niveau du transcrit. Leur caractère, délétère ou non, reste à établir ainsi que l'impact fonctionnel de la perte de cet exon. Cette étude évalue 8 VSI *BRCA2* avec une délétion totale de l'exon 3. Des données familiales de 61 familles ont été rassemblées. Tous ces VSI ont été étudiés au niveau de l'ARN. La perte complète et totale de l'exon 3 a été confirmée au niveau du transcrit dans tous les cas. Pour 38 familles, des données de co-ségrégation ont été obtenues. Le modèle multifactoriel a été utilisé pour évaluer le score de causalité et la probabilité *a posteriori* (PP)

de causalité. Parallèlement, une étude fonctionnelle a été réalisée. Des essais de survie ont été réalisés après exposition à la MMC

**2** VSI avaient plus de données de co-ségrégation. Ainsi, sur 9 et 19 familles, ils donnent chacun une PP de causalité de 100% en faveur d'un effet délétère. En combinant les scores de causalité de l'ensemble des 6 VSI, on obtient un résultat similaire. Au niveau fonctionnel, il a pu être montré une hypersensibilité à la MMC de cellules porteuses de la délétion complète de l'exon 3 de *BRCA2*. La stabilité de la protéine BRCA2 sans l'exon 3 est en cours d'investigation. Ces résultats pourraient indiquer que BRCA2 sans l'exon 3 n'est pas suffisant pour réparer les dommages à l'ADN

Cette étude démontre l'effet délétère de la perte totale et complète de l'exon 3 de *BRCA2* avec augmentation du risque de cancer du sein et de l'ovaire. Les études fonctionnelles renforcent et corroborent ces données. La validation d'un effet par l'étude de co-ségrégation est souvent limitée par de petites familles ou le manque d'information sur le statut des apparentés. Cette étude montre l'intérêt d'augmenter la puissance des études de co-ségrégation en rassemblant plusieurs VSI causant le même effet fonctionnel. Au final, le domaine protéique codé par l'exon 3 interagissant avec la protéine PALB2 est donc primordial pour la fonction de BRCA2. Il peut être intéressant d'étudier les VSI de PALB2 localisé à ce niveau

## ONCOGÉNÉTIQUE

**#3559 : Bonne nouvelle : très souvent sous-estimées, les mutations de régulation d'épissage peuvent maintenant être prédites par des approches bioinformatiques**

### Auteurs :

Omar Soukariéh (1), Pascaline Gaildrat (2), Mohamad Hamieh (1), Aurélie Drouet (1), Stéphanie Baert-Desurmont (1), Thierry Frébourg (2), Mario Tosi (1), Alexandra Martins (1)

1. : Inserm U1079 et Service de Génétique, Centre Normand de Génomique Médicale et Médecine Personnalisée, Inserm, Université de Rouen et CHU de Rouen, Rouen, France

2. Inserm U1079 et Service de Génétique, Centre Normand de Génomique Médicale et Médecine Personnalisée, Inserm, Université de Rouen et CHU de Rouen, Rouen, France

**Mots clefs** : exome, mutations exoniques, régulation de l'épissage, prédictions bioinformatiques, syndrome de Lynch, *MLH1*, *BRCA2*, *BRCA1*, *CFTR*, *NF1*

### Résumé :

Avec l'implémentation du séquençage à haut débit en génétique médicale, le défi majeur en diagnostic moléculaire n'est plus la détection de variations nucléotidiques chez les patients mais l'interprétation des variations identifiées. Le plus souvent, une attention particulière est donnée aux variations générant des changements au niveau protéique, tout en négligeant leur impact potentiel sur l'épissage de l'ARN. Ici, nous avons utilisé comme modèle d'étude l'exon 10 du gène *MLH1*, impliqué dans le syndrome de Lynch, pour évaluer l'effet sur l'épissage de toutes les substitutions ponctuelles identifiées dans cet exon. Nos résultats, issus de tests fonctionnels basés sur l'utilisation de minigènes et, dans la mesure du possible, d'analyses sur l'ARN de patients, ont révélé un nombre surprenant de mutations d'épissage dans l'exon 10 de *MLH1*. Plus précisément, nous avons identifié 17 mutations d'épissage dans cet exon (77% des 22 variations analysées) : 7 variations affectant directement les sites d'épissage (3'ss et 5'ss) et 10 variations altérant vraisemblablement des éléments exoniques régulateurs d'épissage (ESRs).

Parce qu'il est actuellement admis que, contrairement aux variations qui touchent les sites d'épissage, les effets de celles potentiellement touchant des ESRs sont difficiles à prédire, nous avons décidé d'utiliser notre jeu de données sur l'exon 10 de *MLH1* pour évaluer le caractère prédictif de nouvelles approches bioinformatiques focalisées sur les ESRs. Nous avons complété cette analyse avec l'inclusion de 4 jeux de données additionnels, disponibles dans la littérature, dérivés d'études expérimentales de variations dans d'autres gènes/exons, plus précisément : *BRCA2* exon 7, *BRCA1* exon 6, *CFTR* exon 12 et *NF1* exon 37. De façon très prometteuse, nos résultats ont révélé de bonnes performances pour deux de ces nouvelles approches bioinformatiques. D'après nos données, ces nouveaux outils sont capables de prédire, avec de bonnes sensibilité et spécificité : (i) quelles variations exoniques sont les plus susceptibles d'impacter des ESRs, (ii) la direction des défauts d'épissage provoqués, ainsi que (iii) la sévérité de ces anomalies.

En somme, notre étude suggère que le nombre de mutations d'épissage, notamment celles affectant des ESRs, est plus important que celui actuellement estimé, et qu'il est possible de prédire ce type d'altération par des nouvelles méthodes bioinformatiques. Ces nouvelles approches pourraient être utiles dans des stratégies de stratification d'étude de variations exoniques par des tests fonctionnels d'épissage et faciliter l'identification de mutations potentiellement délétères parmi les nombreuses variations nucléotidiques détectées par séquençage à haut débit. Des études à plus large échelle seront importantes pour mieux déterminer les applications possibles et les limitations de ces nouvelles approches bioinformatiques.

## ONCOGÉNÉTIQUE

### #3574 : MELAPRED : premier test de susceptibilité au mélanome sporadique en pratique dermatologique quotidienne

#### Auteurs :

Nadem SOUFIR (1), Steven GAZAL (2), Vincent DESCAMPS (3), Meriem BENFODDA (1), Hui-Han HU (1), Nika MADJLESSI (4), Céleste LEBBE (5), Nicole BASSET-SEGUIN (5), Alain ARCHIMBAUD (4), Jerome BECQUART (6), Michel BACCARD (4), Kristina OPLETALOVA (3), Valérie VUONG (3), Anne GRANGE (7), Caroline NICAISE-BERGERE (8), Frédéric RENARD (9), Sandrine MASSART-MANILE (10), Bruno MACHUEL (11), Philippe SAIAG (12), Nicola DUPIN (13), Pierre WOLKENSTEIN (14), Celia LEVY-SITBON (15), Marie-Christine LAMI (8), Elisabeth ARNOULT-COUDOUX (8), Juliette JEGOU (16), Michel COLOMB (8), Martine BAGOT (5), Armand BENSUSSAN (17), Brigitte LAVOLLE (18), Eduardo NAGORE (19), Rajiv KUMAR (20), Florent GRANGE (21)

1. Département de génétique , Hôpital Bichât Claude Bernard, Paris, France
2. Biostatistique, Hôpital Bichât Claude Bernard, Paris, France
3. Service de Dermatologie , Hôpital Bichât Claude Bernard, Paris, France
4. Dermatologie, Paris, Paris, France
5. Service de Dermatologie , Hôpital Saint Louis, Paris, France
6. Innovaction, SA, Paris, France
7. Service d'allergologie, CHU Reims, Reims, France
8. Dermatologie, Reims, Reims, France
9. Dermatologie, Charleville Mezières, Charleville Mezières, France
10. Dermatologie, Muizon, Muizon, France
11. Dermatologie, Rilly La Montagne, Rilly La Montagne, France
12. Service de Dermatologie , Hôpital Ambroise Paré, Boulogne Billancourt, France
13. Service de Dermatologie , Hôpital Tarnier, Paris, France
14. Service de Dermatologie , Hôpital Henri Mondor, Creteil, France
15. Service de Dermatologie , CHU Reims, Reims, France
16. Service de Dermatologie , Chalons en champagne, Chalons en champagne, France
17. U976: centre de recherche sur la peau , Hôpital Saint Louis, , France
18. ONCOCHA, France, Reims, France
19. Dermatologie, Instituto di oncologia, Valencia, Espagne
20. Division of molecular genetic epidemiology, German cancer research center , Heidelberg, Allemagne
21. Service de Dermatologie, CHU de Reims, Reims, France

**Mots clefs :** dépistage, mélanome, score prédiction, susceptibilité

#### Résumé :

**Introduction:** le mélanome (MM) a un pronostic redoutable en cas de diagnostic tardif, d'où le rôle capital du dépistage précoce et de la prévention. Nous avons mis au point un algorithme prédictif du risque individualisé de MM combinant des facteurs cliniques et génétique (test Melapred) dont nous avons évalué l'acceptabilité dans le cadre d'une étude pilote portant sur des patients vus en dermatologie à l'hôpital ou en exercice libérale

**Matériel et Méthodes:** le test Melapred permet le calcul personnalisé d'un score de risque de MM à l'aide d'un algorithme intégrant des facteurs de risques cliniques (FDR) et génétiques de MM. 252 patients ont été inclus entre avril 2014 et mars 2015, et il leur a été proposé d'effectuer le test Melapred et de leur rendre le résultat au cours d'une seconde consultation, et de leur remettre un questionnaire évaluant le service rendu et l'impact éventuel sur le changement de comportement vis-à-vis des UV et de la surveillance dermatologique. Un questionnaire destiné aux médecins prescripteurs a été également conduit évaluant l'aide au diagnostic et à la prise en charge des patients à haut risque de MM dans leur exercice quotidien. Les accords du CPP de l'hôpital Saint Louis et de la CNIL ont été obtenus. Les données cliniques ont été recueillies sur un formulaire et l'ADN salivaire par un kit ORAGENE, après information, signature et consentement éclairé des patients. Le résultat était rendu 1 à 2 mois après réalisation du test au médecin prescripteur qui le rendait à son patient au cours d'une seconde consultation et lui expliquait le résultat et les conséquences sur la prise en charge

**Observations:** 107 patients étaient inclus à partir de services de dermatologie hospitaliers et 145 à partir de consultations libérale (Paris,Reims)

**Résultats:** 65% des patients étaient à risque élevé de MM, 25% des patients à risque intermédiaire et 10% à faible risque. L'évaluation du questionnaire de 163 patients montre un accueil favorable du test avec perception de son caractère utile (94%), une bonne perception des explications données sur le MM et le but du test, une

volonté nette de suivre les recommandations des médecins prescripteurs, l'absence d'inquiétude générée par l'attente du résultat dans 95% des cas

**Discussion:** sur cette étude pilote, le test Melapred est très bien perçu et jugé utile par les patients, et n'est pas source d'inquiétude. De plus le résultat est susceptible d'influencer la photoprotection et le dépistage et d'augmenter l'adhésion à des comportements de prévention (photoprotection, autosurveillance, et surveillance dermatologique). Il existe également un retour favorable des prescripteurs

**Conclusion:** le test Melapred est bien accepté et perçu par les patients. Son évaluation auprès des prescripteurs est très positive car ils considèrent que c'est un test qui sensibilise les patients et qui améliore la prise en charge de ces derniers. La commercialisation du test Melapred a commencé depuis le mois de juillet 2015

## ONCOGÉNÉTIQUE

### #3591 : Etude de patients porteurs d'une mutation BRCA1 et 2 sur l'île de la Réunion

#### Auteurs :

Anne laure COSTA (1), Hanitra RANDRIANAIVO (2), Mireille IRABE (2), François CARTAULT (3), Malik BOUKERROU (4)

1. Service de Gynécologie obstétrique, CHU La Réunion , Saint Denis , Réunion
2. UF de Génétique Médicale, CHU La Réunion , Saint Pierre , Réunion
3. Service de Génétique , CHU La Réunion , Saint Denis , Réunion
4. Service de Gynécologie obstétrique, CHU La Réunion , Saint Pierre , Réunion

**Mots clefs** : mutation BRCA, population réunionnaise, cohorte GENEPSO, cancer du sein, cancer de l'ovaire, effet fondateur, oncogénétique, caractéristiques histopronostiques, prise en charge multidisciplinaire, stratégies de réduction du risque de cancer

#### Résumé :

Introduction :

Sur l'île de la Réunion, nous avons choisi d'étudier la population mutée BRCA 1 et 2.

Matériel et méthode :

Il s'agit d'une étude rétrospective, multicentrique, sur 10 ans, comprenant 65 sujets, atteints d'une mutation BRCA 1 ou 2. Leurs caractéristiques épidémiologiques, ainsi que l'ensemble des caractéristiques de leur cancer et de leur mutation, ont été analysées.

Nous avons également comparé les cancers du sein initiaux de cette population à ceux de la cohorte nationale GENEPSO.

Résultats : Une mutation particulière a été mise en évidence, la mutation 2840C > A de l'exon 11 du gène BRCA2, touchant 37 % des sujets. Une proportion inhabituelle de mutations BRCA2 a été également constatée : 70% de la population mutée, contre 35% dans la cohorte GENEPSO.

Les caractéristiques histopronostiques des cancers du sein initiaux semblent comparables, mise à part une faible présence de profils triples négatifs, avec une moyenne d'âge de 40 ans. Concernant les chirurgies de réduction de risque, 62% des femmes indemnes de cancer ont refusé toute intervention. Les antécédents familiaux de cancer représentent l'indication principale de prescription du test génétique.

Discussion :

Cette répartition particulière des mutations BRCA est liée à l'histoire ethnique et culturelle de La Réunion, à la fois métissée et compartimentée dans son fonctionnement sociodémographique. Les caractéristiques des cancers touchant cette population ne paraissent pas inhabituelles, mais cette étude met en évidence l'importance du dépistage des facteurs de risque héréditaires de cancer, ne devant pas être uniquement basé sur une histoire familiale évocatrice.

Conclusion :

Nous avons mis en évidence la présence d'une mutation fondatrice du gène BRCA 2, spécifique à l'île de la Réunion. Nous n'avons pas retrouvé de différence entre les populations réunionnaise et métropolitaine mutées, notamment pour les cancers du seins initiaux, hormis un âge légèrement plus jeune, moins de profils triples négatifs, et de manière statistiquement significative une proportion inhabituellement élevée de mutations du gène BRCA 2.

### Auteurs :

Louise Crivelli (1), Virginie Bubien (1), Jennifer Chiron (1), Françoise Bonnet (1), Natalie Jones (1), Emmanuelle Barouk (1), Nicolas Sevenet (1), Bertrand Isidor (2), Albert David (2), Isabelle Mortemousque (3), Sophie Julia (4), Patrice Couzigou (5), Frédéric Caux (6), Michel Longy (1)

1. Unité d'oncogénétique, Institut Bergonié, Bordeaux, France
2. Service de génétique médicale, CHU de Nantes - Hôpital Mère-Enfant, Nantes, France
3. Service de génétique, CHRU de Tours - Hôpital Bretonneau, Tours, France
4. Service de génétique médicale, CHU de Toulouse - Hôpital Purpan, Toulouse, France
5. Service d'hépatogastro-entérologie et d'oncologie digestive, Hôpital Haut Lévêque, Pessac, France
6. Service de dermatologie, CHU Paris Seine-Saint-Denis, Bobigny, France

**Mots clefs :** PTEN, Cowden syndrome, genetic heterogeneity

### Résumé :

**Background:** Cowden syndrome (CS) is an inherited autosomal dominant disorder associated with germline mutations of *PTEN*. The experience gained from the implementation of molecular diagnostic analysis of *PTEN* showing the existence of patients with a demonstrative phenotype without a *PTEN* mutation, argues in favor of genetic heterogeneity. To explore this hypothesis, we performed exome sequencing and compared potentially deleterious variants in *PTEN* mutation-negative patients with CS phenotype.

**Methods:** We selected a series of 22 patients with a CS phenotype for which molecular investigations (including NGS analysis of the complete genomic locus of *PTEN*) had failed to characterize a mutation. Two of them with a sporadic presentation had parental DNA available allowing a trio strategy. Cleveland Clinic and PTEN Predict diagnostic scores were calculated for all patients. Exomes were sequenced by the Integragen company. Genomic DNA was captured by Agilent NGS Target Enrichment Sure Select Human All Exons V5®, and then paired-end sequenced using an Illumina HiSEQ 2000®. Bioinformatic analysis was based on the Illumina pipeline CASAVA1.8® using ELANDv2e® alignment algorithms. SNV and Indel annotation was performed by Integragen. Candidate genes were then selected using ERIS® Integragen software, and then validated using an in-house strategy. The first analysis compared the 22 exomes to identify candidate genes. The second analysis concerned the two trios and looked for a neo mutation.

**Results:** Approximately 2700 Indels and 37000 SNVs were identified per patient. For the first analysis, the following filters were applied to generate a list of 125 variants in 69 genes: only heterozygous Indels, Nonsense, Splice variants, with MAF less than 0,1% and a minimal depth of 10, and with at least 2 variants found in 2 patients were retained. Interestingly, a previously unreported large *PTEN* insertion was found in 2 patients with high diagnostic scores, and an Indel in *BRCA2* was found in one patient with poor diagnostic scores. In the remaining 67 candidate genes, only one showed validated alterations in more than one patient: *PLA2G4B*. For the second analysis, the following filters were applied to generate a list of 34 (first trio) and 30 (second trio) heterozygous neo mutations: only variants with MAF under 0,5% and minimal depth of 10 were retained. In the first trio, there was no validated neo mutation but in the second trio, one neo mutation was validated in a gene involved in the regulation of the PI3K/Akt signaling pathway like *PTEN*.

**Conclusion:** The identification of 2 genes whose alterations are responsible for a phenotype very similar to *PTEN* mutations may reveal important perspectives concerning functional pathways and carcinogenesis, but further investigations are needed to confirm their implication. If no new gene is identified, the alternative hypothesis seems to be the presence of undetectable *PTEN* mutations in patients with high diagnostic scores.

## ONCOGÉNÉTIQUE

### #3575 : Deep intronic mutation of PTEN in Cowden disease

#### Auteurs :

Stéphanie GOURDON (1), Maylis DUPOUY (2), Léa LEMAITRE (3), Delfine LAFON (3), Bernadette GASTALDELLO (3), Louise CRIVELLI (3), Natalie JONES (3), Emmanuelle BAROUK-SIMONET (3), Virginie BUBIEN (3), Patrick EDERY (4), Tanguy MARTIN-DENAVIT (5), Françoise BONNET (3), Michel LONGY (3), Nicolas SEVENET (3)

1. pédiatrie, CHU, Saint-Denis, Réunion
2. informatique, école d'ingénieur, Grenoble, France
3. oncogénétique, Institut Bergonie, Bordeaux, France
4. Service de génétique médicale, CHU, Lyon, France
5. Service de dermatologie, CHU, Lyon, France

**Mots clefs** : PTEN, Cowden, intronic mutation, ENCODE

#### Résumé :

##### Introduction

The umbrella term PTEN Hamartoma Tumor Syndrome (PHTS) gathers together several phenotypic presentations including Cowden disease related to germline *PTEN* deleterious mutations. Despite this phenotypic heterogeneity, clinically Cowden disease patients do not harbor any deleterious *PTEN* coding phase mutation, suggesting either a genetic heterogeneity or mutations lying on *PTEN* transcription regulation regions located at large distance from *PTEN* gene. Since 1997, the genetic lab of Bergonie Institute in Bordeaux underwent the molecular diagnostic of *PTEN* mutation in Cowden patients.

##### Material & methods

A series of 22 Cowden disease patients without any *PTEN* coding phase mutation was defined. For each, the entire genomic *PTEN* locus was deeply sequenced using the combination of capture and sequencing by synthesis (Illumina).

##### Results

A total of 96 unique deep intronic variants in *PTEN* gene were detected in the series of 22 patients. In order to select pathogenic variants, a succession of different computer filtering strategies were used. Variants in locally repeated region, or in genomic repeated sequences (LINE, SINE, ...) were excluded. Selected variants were then mapped in the 2209 metatables of ENCODE project and those in transcription regulation region were specifically selected. Together, a series of 6 variants was defined, 4 variants lying in intronic region of *PTEN*, one in the 3'UTR and one in a intergenic position. Intronic variants were located between 100 to 15000 nucleotides from exon-intron junction. One intronic variant is predicted to be involved in the transcription silencing of *PTEN*. Results of the prediction together with the molecular exploration of the involvement of variants in the *PTEN* expression regulation were presented.

##### Conclusion

Deep intronic variant could be a novel mechanism of deleterious *PTEN* transcription silencing, then enabling a new way of pathogenicity in Cowden disease. If fully documented, such mutation should be analyzed in every patient displaying Cowden disease clinical signs.

of note, the first three authors contributes equally to the work