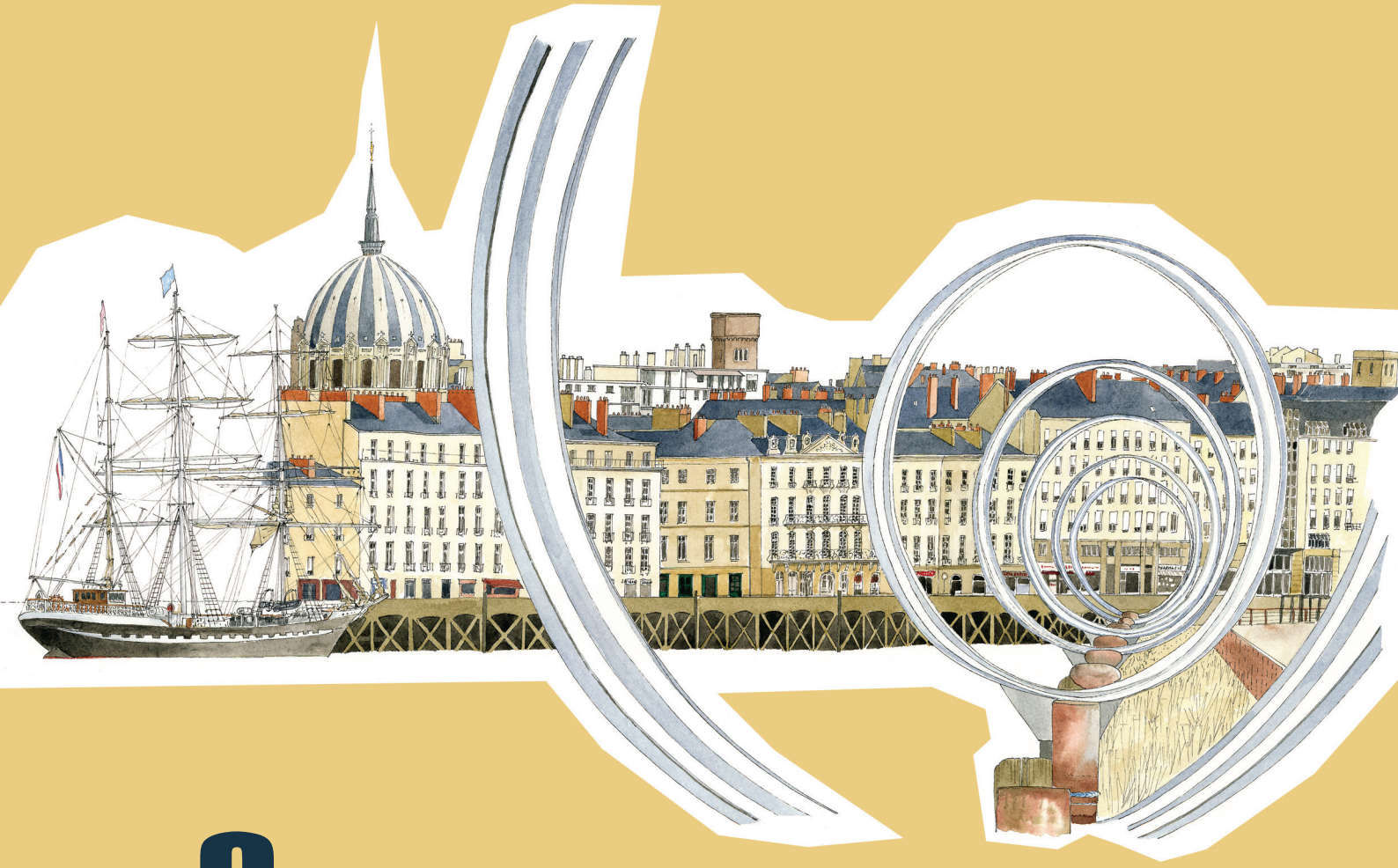

9èmes ASSISES DE GÉNÉTIQUE HUMAINE ET MÉDICALE

NANTES EVENT CENTER, LA CITÉ 24 > 26 JANVIER 2018

www.assises-genetique.org

RECUEIL DES ABSTRACTS

mco congrès

Infos générales & inscription : kim.marsilj@mcocongres.com
Infos sponsoring & partenariat : julia.schroeder@mcocongres.com

FFGH

Aquarelle de Nantes©Eric Cabanas

CO001 : Identification d'une forme inhabituelle d'amaurose congénitale de Leber avec surdité de perception précoce et sévère et identification du gène en cause.

Auteurs :

Sabrina Méchaussier (1), Romain Luscan (2), Antoine Paul (2), Guoling Tian (3), Xavier Gerard (4), Natalie Loundon (5), Sabine Defoort-Dhellemmes (6), Isabelle Audo (7), Julien Dumont (8), Nicolas Goudin (9), Meriem Garfa Traoré (10), Marc Bras (11), Aurore Pouliet (12), Nathalie Boddaert (13), Stanislas Lyonnet (2), Josseline Kaplan (14), Nicholas Cowan (3), Jean-Michel Rozet (4), Sandrine Marlin (2), Isabelle Perrault (4)

1. LGO Inserm U1163, Institut Imagine, Paris , France
2. Laboratoire de Génétique des malformations Inserm U1163, Institut Imagine, Paris, France
3. Department of Biochemistry & Molecular Pharmacology, NYU Langone Medical Center, New-York, Etats-Unis
4. LGO Inserm U1163, Institut Imagine, Paris, France
5. Departement de pédiatrie, Hopital Necker Enfants Malades, Paris, France
6. , CHRU Lille, Lille, France
7. Ophtalmologie, Centre Hospitalier National d'Ophtalmologie des Quinze-Vingts, Paris, France
8. Cell Division and Reproduction, Institut Jacques Monod, Paris, France
9. 8Cell imaging core facility of the Structure Fédérative de Recherche Necker INSERM US24/CNRS UMS3633 , Institut Imagine, Paris, France
10. Cell imaging core facility of the Structure Fédérative de Recherche Necker INSERM US24/CNRS UMS3633 , Institut Imagine, Paris, France
11. Bioinformatics Platform, Paris Descartes University, Institut Imagine, Paris, France
12. Genomics Platform, Institut Imagine, Paris, France
13. Departement de Radiologie Pédiatrique, Hopital Necker Enfants Malades, Paris, France
14. Laboratoire de Génétique Ophtalmologique, Institut Imagine, Paris, France

Mots clefs : Nouveau syndrome, Dystrophie rétinienne, Surdité

Résumé :

Introduction : Les dystrophies rétiniennes sévères et précoces (DRSP) sont la première cause de cécité incurable de l'enfant. Elles sont homogènes dans leur présentation clinique initiale, mais variables dans leur évolution et peuvent s'accompagner d'atteintes extra-oculaires touchant principalement le système nerveux, le rein et le squelette. Ces affections sont très majoritairement récessives autosomiques, et de très nombreux gènes sont reconnus. Les formes isolées relèvent de mutations affectant diverses fonctions rétiniennes, incluant le trafic le long du cil connecteur des photorécepteurs tandis que les atteintes syndromiques relèvent toujours de dysfonctions ciliaires pluri-systémiques. Bien que très nombreux, les gènes reconnus à ce jour ne couvrent que 70% des cas de la maladie. L'objectif des travaux présentés ici étaient l'identification du ou des gènes responsables d'une forme syndromique non encore rapportée d'ACL avec surdité de perception précoce.

Familles et méthodes : Trois cas sporadiques et un cas familial de surdicécité avec transmission mère-fils et surdité tardive isolée chez la grand-mère maternelle, ont été inclus. L'étude présentée a consisté en un séquençage de l'exome en trio à la recherche de variants dominants ou récessifs ultra-rares potentiellement délétères, une analyse haut débit ciblée de la séquence du gène le plus candidat et d'études fonctionnelles dans un modèle cellulaire COS7 et des fibroblastes des patients.

Résultats : Deux mutations monoalléiques faux-sens touchant un acide aminé unique ont été identifiées dans un gène non encore lié à une maladie et sans rapport avec les fonctions ciliaires. Dans le cas familial, la mutation présente dans l'ADN de la mère et de son fils, était également retrouvée en mosaique chez la grand-mère maternelle sourde (29%). De même, dans l'un des trois cas sporadiques, la mutation du cas index était retrouvée en mosaïque dans l'ADN maternel (13%). Les examens audio-ophtalmologiques étaient sans particularité chez cette femme. Dans les deux derniers cas sporadiques, la mutation n'a pas été retrouvée dans l'ADN parental, suggérant une survenue *de novo*. La surexpression des protéines mutantes et sauvage dans un modèle cellulaire, de même que l'analyse des fibroblastes de patients, ont démontré l'effet délétère des mutations sur la fonction du gène et confirmé l'absence d'anomalie de la ciliogenèse et du trafficking intra-flagellaire.

Conclusion : Nous rapportons ici une nouvelle forme d'ACL syndromique et l'identification du gène responsable. Cette maladie contraste avec les autres formes syndromiques par sa présentation clinique purement neurosensorielle, un mode de transmission dominant et l'implication d'une fonction sans rapport avec le métabolisme ciliaire. Cette étude démontre que malgré trois décennies de recherches intenses sur l'ACL, cette maladie est loin d'avoir livré tous ses secrets.

CO002 : Etude d'éléments cis-régulateurs du gène PKD2 impliqué dans la polykystose rénale autosomique dominante.

Auteurs :

Stéphanie MOISAN (1), Stéphanie LEVON (2), Emilie CORNEC-LE GALL (1), Yannick LE MEUR (3), Marie-Pierre AUDREZET (1), Josée DOSTIE (4), Claude FEREC (1)

1. Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (INSERM), U1078, Laboratoire de Génétique Moléculaire et d'Histocompatibilité, Centre Hospitalier Régional Universitaire (CHRU), Hôpital Morvan, BREST, France
2. Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (INSERM), U1078, Faculté de Médecine et des Sciences de la Santé, Université de Bretagne Occidentale (UBO), BREST, France
3. Service de néphrologie, , Centre Hospitalier Régional Universitaire (CHRU), BREST, France
4. Department of Biochemistry and Goodman Cancer Research Center, McGill University, Montréal, Canada

Mots clefs : Régulation à distance / enhancer / conformation chromatinienne / PKD2 / PKAD / Cis-ruption

Résumé :

Les maladies génétiques sont souvent associées à des variations dans des séquences codantes. Pourtant, de nombreuses pathologies sont dues à une expression anormale d'un gène, suite à l'altération d'un de ses éléments de régulation. Ainsi, il a été mis en lumière l'implication d'anomalies de régions régulatrices à distance d'un gène dans plusieurs maladies génétiques. Il a été proposé le terme de '*cis-ruption disorder* ' pour décrire les pathologies dont l'origine provient d'un dysfonctionnement d'un élément cis-régulateur. Ces nouvelles données dévoilent l'importance de la compréhension des éléments de régulation du génome pour prédire leurs potentiels rôles pathogéniques.
Notre laboratoire travaille depuis 20 ans sur les gènes responsables de la polykystose autosomique dominante (PKAD). La PKAD est la plus fréquente des maladies génétiques rénales avec une incidence de 1/400 à 1/2000. Dans 75 à 80% des cas, la mutation est située sur le gène *PKD1 (Polycystic Kidney Disease 1)* et dans 10 *à* 15% des cas sur *PKD2*. Malgré l'identification de plus de 1400 mutations (ADPKD Mutation Database, http://pkdb.mayo.edu/), les mutations de 5 à 10% de patients n'ont pas été décrites. Il existe également une variabilité phénotypique importante de la pathologie entre les patients, même au sein de famille.
C'est pourquoi dernièrement, notre équipe s'est intéressée à l'impact de régulation à distance sur le gène *PKD2*. L'organisation spatiale d'une région d'environ 670 kb recouvrant le gène *PKD2*, a été analysée dans des cultures primaires de cellules épithéliales rénales par la technique de Copie Conforme de 3C (5C). Les interactions entre les régions de ce locus et le promoteur *PKD2* ont été étudiées par séquençage nouvelle génération sur Ion PGM™.
Cette étude a permis d'identifier plusieurs régions interagissant fortement avec le promoteur *PKD2*. Grace à des tests d'activité d'expression, nous avons pu démontrer le rôle enhancer de trois de ces régions et décrivons ainsi pour la première fois l'implication de régulation à distance et l'importance de l'organisation chromatinienne d'un gène lié aux PKAD.
Des variations dans ces éléments de régulation, pourraient élucider des cas de patients chez qui la mutation causale n'a pas été identifiée et expliquer des phénotypes atypiques.

Résumé S.Moisan.pdf

CO003 : L'adaptateur de signalisation immunitaire LAT contribue au phénotype neuroanatomique des CNVs de la région 16p11.2 BP2-BP3

Auteurs :

Maria Nicla Loviglio (1), Thomas Arbogast (2), Aia Elise Jønch (3), Stephan C. Collins (1), Konstantin Popadin (4), Camille S. Bonnet (1), Giuliana Giannuzzi (4), Anne M. Maillard (3), Sébastien Jacquemont (5), Binnaz Yalcin (1), Nicholas Katsanis (2), Alexandre Reymond (4), Christelle Golzio (1)

1. , IGBMC, Illkirch-Graffenstaden, France
2. , CHDM, Durham, Etats-Unis
3. , CHUV, Lausanne, Suisse
4. , CIG-UNIL, Lausanne, Suisse
5. , CHU Sainte Justine, Montreal, Canada

Mots clefs : variation du nombre de copies (CNV), 16p11.2, poisson-zèbre , autisme

Résumé :

La variation du nombre de copies (en anglais, Copy Number Variation, CNV) est un des contributeurs principaux à la pathogenèse des syndromes génétiques rares, mais aussi des maladies multifactorielles fréquentes. Sur le bras court du chromosome 16, les CNVs de la région distale BP2-BP3 de longueur 220 Kb conduisent à un effet miroir entre sous-poids et obésité sévère, et micro/macrocéphalies, et ils sont aussi associés avec l'autisme et la schizophrénie. Des phénotypes similaires ont été précédemment observés sur la même bande chromosomique (16p11.2) pour des délétions et duplications proximales dans la région BP4-BP5 (600 Kb). Les régions BP2-BP3 et BP4-BP5 présentent des contacts chromatiniens réciproques, confirmés avec succès par différentes techniques (4C-seq, FISH, co-régulation dans l'expression des gènes, et des données Hi-C), indiquant une relation fonctionnelle entre les gènes de ces régions qui pourraient être pertinentes pour le pathomécanisme. La modélisation de la duplication de la région BP2-BP3 dans le poisson-zèbre a révélé que la surexpression du gène *LAT* (en anglais, Linker for Activation of T-cells) diminue la prolifération des cellules dans le cerveau et des neurones post-mitotiques dans le cerveau antérieur ainsi que le nombre des axones entre les tecta optiques, au début du développement embryonaire. Dans les stades suivants du développement, nous observons une microcéphalie chez les larves de poissons zèbre au stade 5 jours. La modélisation de la délétion par suppression de l'orthologue de *LAT* dans le poisson zèbre par CRISPR/Cas9 induit une augmentation de cette prolifération et la macrocéphalie. Ces phénotypes ne sont pas uniques au poisson zèbre; les souris knock-out pour le gène *Lat* montrent aussi des changements volumétriques cérébraux. Conformément à l'hypothèse selon laquelle le dosage de *LAT* est important pour la pathologie du CNV, nous avons observé des effets similaires sur les progéniteurs neuronaux avec la surexpression des gènes *CD247* et *ZAP70*, qui sont deux membres du *même* signalosome dont LAT fait partie. *KCTD13*, *MVP* et *MAPK*3 sont situés dans la région BP4-BP5 et, sont, respectivement, un gène majeur et deux gènes modificateurs des anomalies de la taille de la tête liées à cette région. Nous avons ensuite réalisé des expériences d'interaction génique et nous avons observés que la surexpression combinée de ces trois gènes et *LAT* augmente, de manière additive, la sévérité de la microcéphalie ; cette sévérité accrue a pu être observée chez des individus avec un grand réarrangement de 1,7 Mb de la région BP1-BP5, incluant les deux CNVs (BP2-BP3 et BP4-BP5). L'ensemble de ces données soutiennent notre hypothèse d'une interaction physique et fonctionnelle entre les gènes majeurs de ces deux CNVs et indiquent que *LAT*, en plus de sa fonction reconnue dans le développement des lymphocytes T, est le gène majeur des phénotypes neuro-développementaux associés aux délétions et duplications de la région 16p11.2 BP2-BP3.

CO004 : Evaluation de l'intérêt de l'IRM corps entier pour la détection précoce des cancers chez les sujets porteurs de mutation constitutionnelle de TP53 dans le cadre d'un syndrome de Li-Fraumeni : résultats de l'étude LIFSCREEN

Auteurs :

Olivier Caron (1), Thierry Frébourg (2), Patrick Benusiglio (1), Laurence Faivre (3), Valérie Bonadona (4), Capucine Delnatte (5), Catherine Nogues (6), Christine Lasset (7), Chrystelle Colas (8), Dominique Stoppa-Lyonnet (9), Marion Gauthier-Villars (10), Pascal Pujol (11), Carole Coze (12), Caroline Abadie (13), François Eisinger (14), Emmanuelle Barouk-Simonet (15), Véronique Mari (16), Pascaline Berthet (17), Yves-Jean Bignon (18), Emmanuelle Bourbouloux (19), Nathalie Chabbert-Buffet (20), Bruno Buecher (10), Viviane Feillel (21), Olivier Ingster (19), Emmanuelle Fourme (22), Elizabeth Luporsi (23), Jean Chiesa (24), Hélène Dreyfus (25), Paul Gesta (26), Sophie Lejeune (27), Julie Tinat (28), Sophie Julia (29), Coupier Isabelle (11), Christine Maugard (30), Agnès Laplanche (31), Claire Guillemeau (32), Alejandra Cano (32), Sandra Canale (33), Julia Arfi-Rouche (33), Corinne Balleyguier (33), Cedric Parlavecchio (34), Léonor Fasse (32), Katty Malekzadeh (31), Eleni Karamouza (31), Stéphanie Foulon (31), Laurence Brugières (35)

1. Département de Médecine Oncologique, Gustave Roussy Hôpital Universitaire, Villejuif, France
2. Département de Génétique, CHU, Rouen, France
3. Centre de Génétique, CHU, Dijon, France
4. Consultation d'Oncologie Génétique, Centre Léon Bérard, Lyon, France
5. Service d'Oncologie Médicale, Institut de Cancérologie de l'Ouest - Centre René Gauducheau, Nantes, France
6. Service de Génétique, Institut Curie, Hôpital René Huguenin, Saint-Cloud, France
7. Unité de Prévention et Epidémiologie Génétique / UMR CNRS5558, Centre Léon Bérard, Université Lyon 1, Lyon, France
8. Département de Génétique, GHU Pitié-Salpétrière, Paris, France
9. Service de Génétique, Institut Curie, Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, Paris, France
10. Département de Génétique, Institut Curie, Paris, France
11. Service de Génétique Clinique, CHU, Montpellier, France
12. Département de Pédiatrie, CHU AP-HM, Marseille, France
13. Consultation d'Oncologie Génétique, CHU, Rennes, France
14. Département de Génétique, Institut Paoli Calmettes, Marseille, France
15. Consultation d'Oncologie Génétique, Institut Bergonié, Bordeaux, France
16. Consultation d'Oncologie Génétique, Centre Antoine Lacassagne, Nice, France
17. Consultation d'Oncologie Génétique, Centre François Baclesse, Caen, France
18. Département de Génétique, Centre Jean Perrin, Clermont-Ferrand, France
19. Consultation d'Oncologie Génétique, Institut de Cancérologie de l'Ouest, Angers, France
20. Service de Gynécologie Obstétrique, AP-HP Tenon, Paris, France
21. Consultation d'Oncologie Génétique, Institut Claudius Régaud, Toulouse, France
22. Département de Génétique, Institut Curie, Saint-Cloud, France
23. Consultation d'Oncologie Génétique, Institut de Cancérologie de Lorraine, Nancy, France
24. Unité de Génétique médicale, CHU, Nîmes, France
25. Consultation d'Oncologie Génétique, Institut Sainte Catherine, Avignon, France
26. Service d'Oncologie, Centre Hospitalier Général, Niort, France
27. Service de Génétique Clinique, CHRU, Lille, France
28. Unité de Génétique, CHU, Rouen, France
29. Service de Génétique Clinique, CHU, Toulouse, France
30. Consultation d'Oncologie Génétique, CHU, Strasbourg, France
31. Service de Biostatistique et d'Epidémiologie, Gustave Roussy Hôpital Universitaire, Villejuif, France
32. Unité de psycho-oncologie, Gustave Roussy Hôpital Universitaire, Villejuif, France
33. Département d'Imagerie Médicale, Gustave Roussy Hôpital Universitaire, Villejuif, France
34. Direction de la Recherche Clinique, Gustave Roussy Hôpital Universitaire, Villejuif, France
35. Département de Pédiatrie, Gustave Roussy Hôpital Universitaire, Villejuif, France

Mots clefs : TP53, Li Fraumeni, Surveillance, prévention

Résumé :

Le très large spectre tumoral du syndrome de Li Fraumeni (LFS), prédisposition au cancer causée par une mutation du gène *TP53*, rend complexe la prise en charge des porteurs. Le protocole multicentrique national LIFSCREEN avait pour objectif principal de comparer les performances diagnostiques de 2 schémas pour le dépistage de cancers dans cette population.
Méthodes : Etait éligible tout porteur de mutation délétère de *TP53*, > 5 et < 75 ans, avec ou sans antécédent de cancer. Un tirage au sort déterminait le bras de surveillance standard (SS) (examen clinique, échographie abdominopelvienne, IRM cérébrale, NFS, IRM mammaire et échographie mammaire pour les femmes dès 20 ans) ou « IRM CE » (SS + IRM corps entier de diffusion). Les examens étaient répétés annuellement pendant au moins 3 ans (M0, M12, M24). A chaque étape, l'acceptabilité et le retentissement psychologique étaient évalués (auto-questionnaires, entretiens).
Résultats : 105 participants (pts) (moyenne d'âge 33 ans [5-66]) ont été randomisés. Jusqu'au 31/12/2016, 11pts ont réalisé 1 seule étape, 14pts 2, 35pts 3, 20pts 4, 18pts 5. Au total, 25pts ont présenté 36 évènements carcinologiques (13 prévalents): 31

nouveaux primitifs (6 cancers du sein (CS), 5 du poumon, 4 tumeurs du système nerveux central, 3 sarcomes, 3 leucémies aigues, 3 carcinomes basocellulaires, 1 voies urinaires, 1 corticosurrénalome, 1 carcinome rénal, 1 pancréas, 1 myélome, 1 colon bifocal, 1 choriocarcinome) et 5 récidives (3 CS, 1 sarcome, 1 basocellulaire). 20 primitifs ont été détectés dans le bras SS et 11 dans le bras IRM CE. 27 biopsies ont été réalisées dans le bras SS et 20 dans le bras IRM CE. La relecture centralisée de 141 IRM CE a montré 44 discordances. Il n'y avait pas de différence en survie globale entre les 2 bras (logrank p=0.90). Sur les 24 pts avec nouveau cancer, 8 sont décédés dans un délai médian de 13 mois (4 dans chaque bras). Seuls 10 sont sortis volontairement de l'étude. Le volet psychologique a noté un ajustement adapté des pts, sans différence notable entre les 2 bras.

Discussion : LIFSCREEN est la seule étude randomisée dans le domaine, avec l'un des effectifs de patients LFS le plus important rapporté à ce jour. Elle montre que le suivi régulier est faisable et acceptable. Le spectre tumoral est inattendu (peu de sarcomes, nombreux cancers du poumon). L'IRM CE était bien tolérée. Elle a généré peu de biopsies inutiles. Bien que son usage n'apportait pas de bénéfice en survie globale et que son interprétation pouvait être difficile, l'IRM CE pourrait être ajoutée au schéma de surveillance des familles LFS, notamment pour la surveillance pulmonaire. Nos résultats suggèrent que le protocole lourd, préconisé par certaines équipes nord-américaines, doit être considéré avec précaution. En outre, malgré le dépistage, la survie à court terme après le diagnostic de cancer était mauvaise. Une optimisation des moyens de prévention et des traitements est nécessaire.

CO005 : Étude de facteurs génétiques modificateurs dans le syndrome de Marfan

Auteurs :

Louise Benarroch (1), Mélodie Aubart (1), Marie-Sylvie Gross (1), Pauline Arnaud (2), Steven Gazal (3), Jean-Francois Deleuze (4), Jacob Marie-Paule (1), Nadine Hanna (2), Guillaume Jondeau (5), Catherine Boileau (1)

1. LVTS, INSERM U1148, Paris, France
2. Département de génétique, CHU X. Bichat, Paris, France
3. Department of Epidemiology, Harvard University, Boston , Etats-Unis
4. Centre National de Génotypage, Institut de génomique, CEA, Evry, France
5. Centre de référence national syndrome de Marfan et syndromes apparentés, CHU X. Bichat, Paris, France

Mots clefs : Syndrome de Marfan, variabilité, modificateurs, Fibrilline-1

Résumé :

Le syndrome de Marfan (MFS) est une maladie génétique rare (1/5000 sujets), à transmission autosomique dominante, principalement dû à des mutations dans le gène codant pour la fibrilline 1 (*FBN1*), situé sur le chromosome 15. L'atteinte est plurisystémique touchant, entre autre, le système cardio-vasculaire (anévrisme de l'aorte thoracique ascendante avec risque de dissection aortique). Ce syndrome est caractérisé par une très grande variabilité clinique, inter- et intrafamiliale, concernant aussi bien l'âge d'apparition 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) ne peuvent expliquer de cette variabilité.
De plus, des résultats antérieurs ont montré, qu'en plus de cette variabilité phénotypique, il existe une variabilité d'expression du gène *FBN1* d'un facteur 4 observée aussi bien chez des contrôles que chez des sujets MFS porteurs d'une mutation tronquante dans le gène *FBN1.*
Pour identifier les facteurs génétiques modificateurs sous-jacents de la variabilité phénotypique, plusieurs études pangénomiques ont été réalisées chez 1070 patients MFS porteurs d'une mutation dans le gène *FBN1.* A partir de cette cohorte, une analyse eQTL (*expression Quantitative Trait Loci*) chez 80 sujets MFS porteurs d'une mutation tronquante dans le gène *FBN1* a été réalisée. Cette analyse a permis d'identifier un locus statistiquement associé à l'expression de *FBN1* (p-valeur = 6.10^{-8}), situé sur le chromosome 11. Une étude portant sur les gènes situés au plus proche de ce locus n'a pas permis de mettre en évidence de corrélation entre l'expression de ces gènes et la régulation de l'expression du gène *FBN1.*
En revanche, le croisement de ces résultats avec ceux d'autres études génomiques sur la variabilité a permis d'élargir la région d'étude de ce locus et de mettre en évidence un cluster de métalloprotéinases (MMP), situé à proximité du *trans*-eQTL. Le rôle des MMPs dans l'équilibre de la matrice extracellulaire mais également l'implication de certains MMPs dans la physiopathologie des anévrismes de l'aorte thoracique font de ces gènes de bons candidats comme facteurs génétiques modificateurs. Des études quantitatives de corrélation (dosages sériques, quantification allèlique) ont permis de mettre en évidence des mécanismes de régulations impliquant certaines MMPs. Ces résultats et la compréhension de mécanismes sous-jacent pourraient nous permettre d'identifier les facteurs à l'origine de la variabilité phénotypique.

CO006 : iPSCs as a promising tool for modelling developmental and early onset neurodegenerative defects of the cerebellum

Auteurs :

Ekin Ucuncu (1), Daniel MEDINA-CANO (2), laurence colleaux (2), Vincent Cantagrel (2)

1. Laboratory of Developmental Brain Disorders, Institut Imagine, paris, France
2. Laboratory of Developmental Brain Disorders, Institut Imagine, Paris, France

Mots clefs : cerebellum, induced stem cells, neurons, glycosylation, pontocerebellar hypoplasia

Résumé :

Cerebellar atrophy and hypoplasia are two frequently observed neurological features in various pathological conditions such as Congenital Disorders of Glycosylation (CDG) and Pontocerebellar hypoplasia (PCH). The former is mainly associated with defects in protein N-glycosylation pathway, suggesting the importance of this modification in cerebellar development. Among various CDG cases, patients with *SRD5A3* mutations are frequently affected with a severe atrophic and/or hypoplastic cerebellar phenotype. PCH is characterized by the incomplete development of brain stem and cerebellum with the implication of various pathways, mainly involved in RNA maturation.
Recent advances in induced pluripotent stem cells (iPSCs) technology, has opened up new avenues in disease modeling, allowing access to an unlimited supply of disease relevant cell types. Particularly, iPSCs become an attractive source for neurological disorders, as it offers the possibility to generate otherwise inaccessible human brain cells.
To better understand the role of protein N-glycosylation in cerebellar development, we previously developed a cerebellum-specific *Srd5a3* conditional KO (cKO) mouse. Consistent with the human phenotype, our mouse model showed cerebellar hypoplasia with abnormal N-glycosylation patterns and impaired cerebellar functioning. Using a glycoprotemic approach, we could identify the immunoglobulin superfamily cell adhesion molecules (IgSF-CAMs) as being specifically sensitive to the defect. Then, using in vitro live cell imaging analysis we could identify a clear defect in neural extension resulting from a significant decrease in IgSF-CAM-dependent cell adhesion. In order to extend our conclusions to a human cell model, we undertook an iPSC-based approach, where we generated *SRD5A3* KO hiPSC lines using genome editing. We further differentiate them into neural progenitor cells (NPCs) and mature neurons. The characterization of these NPCs allowed us to recapitulate the mouse neuron-specific N-glycosylation defect.
We are also developing an iPSC-based modeling strategy in order to identify new potential molecular defects related to cerebellar atrophy and hypoplasia in the context of PCH disorders. We previously identified a consanguineous family with a unique type of PCH suggesting a new underlying molecular defect. For this project, we are using PCH patient-derived iPSCs lines to assess the proliferation and differentiation capacity of the induced neurons. We will study neurite dynamics and cell survival rate during the course of differentiation.
In conclusion, our attempts in modeling neurodevelopmental cerebellar defects with human iPSCs already allowed us to validate some previous biochemical mouse findings, in the context of CDG. It provides a promising strategy to extend some previous observations to human cells and to unravel new molecular mechanisms implicated in hypoplasia and childhood-onset atrophy of the cerebellum.

CO007 : Evaluation de l'apport du séquençage haut débit d'exome dans le diagnostic des erreurs innées du métabolisme dans une série de 550 patients atteints de déficience intellectuelle et/ou d'anomalies du développement embryonnaire

Auteurs :

Nada HOUCINAT (1), Sébastien MOUTTON (2), Angeline BRUEL (3), Paul KUENTZ (4), Julien THEVENON (3), Yannis DUFFOURD (3), Patrick CALLIER (3), Nolwenn JEAN (5), Anne-Laure MOSCA (3), Frederic TRAN MAUTHEM (3), Daphné LEHALLE (5), Salima EL-CHEHADEH (6), Christine FRANCANNET (7), Marine LEBRUN (8), Laetitia LAMBERT (9), Marie-Line JACQUEMONT (10), Marion GERARD-BLANLUET (11), Jean-luc ALESSANDRI (12), Marjolaine WILLEMS (13), François FEILLET (14), Tony O'GRADY (15), Christel THAUVIN (3), Laurence OLIVIER-FAIVRE (3)

1. Génétique médicale, CHU dijon, dijon, France
2. Génétique médicale, CHU dijon, Dijon, France
3. Fédération Hospitalo-Universitaire Médecine Translationnelle et Anomalies du Développement, CHU Dijon Bourgogne, Dijon, France
4. Fédération Hospitalo-Universitaire Médecine Translationnelle et Anomalies du Développement, CHU Besançon, Besançon, France
5. génétique médicale, CHU Dijon Bourgogne, Dijon, France
6. Génétique médicale, CHU Strasbourg, strasbourg, France
7. Génétique médicale, CHU Clermont-Ferrand, Clermont Frerrand, France
8. Service de génétique clinique chromosomique et moléculaire, CHU Sainte-Etienne, Saint-Etienne, France
9. Génétique médicale, CHU Nancy, NANCY, France
10. Génétique médicale, CHU Réunion, Saint-Pierre, France
11. Génétique médicale, Robert Debré Paris, paris, France
12. Génétique médicale, CHU de la Réunion, Saint-Pierre, St Pierre Réunion, France
13. Génétique médicale, CHU Montpellier, Montpellier, France
14. INSERM U954, Nutrition-Génétique et Exposition aux Risques Environnementaux, Faculté de médecine de Nancy, NANCY, France
15. Department of genetics, Midland Regional Hospital, Mullingar, Co. Westmeath, Irlande

Mots clefs : exome, erreurs innées du métabolisme, déficience intellectuelle, malformations congénitales

Résumé :

Les erreurs innées du métabolisme (EIM) constituent un groupe de maladies génétiques dont l'origine est un déficit d'une voie biochimique. Elles se caractérisent par une grande hétérogénéité clinique. Les explorations biochimiques (dosages des métabolites, activités enzymatiques…) demeurent la technique de référence pour le diagnostic de ces maladies. L'analyse moléculaire n'intervient le plus souvent que dans un second temps en fonction de l'orientation clinico-biochimique pour l'identification des mutations causales, indispensable à la confirmation diagnostique et le conseil génétique. Néanmoins, le rendement diagnostique de ces techniques standards reste faible (0.8 à 14% selon la présentation clinique). Dans cette étude, nous évaluons l'apport du séquençage d'exome dans le diagnostic des EIM dans une série de 550 patients après un premier bilan étiologique non contributif. Ces patients étaient adressés pour avis diagnostique devant une présentation aspécifique d'encéphalopathie, de déficience intellectuelle, d'atteinte neurosensorielle et/ou de malformations congénitales. Un diagnostic moléculaire a été possible chez 177 patients. 11% des diagnostics étaient des EIM, identifiées chez 20 cas index, dont un nouveau phénotype lié au gène SLC13A5. Les patients étaient de tous âges, dont deux fœtus atteints de Niemann Pick C et de déficit en ALDH18A1 respectivement. On rapporte 2 cas de CLN1 et deux autres de CLN3 dont un adulte suivi pour rétinite pigmentaire sans épilepsie. Deux diagnostics ont permis la mise en place de thérapeutiques ciblées : les déficits en GLUT1 et en Sepiapterine réductase. Deux diagnostics précoces de mannosidose ont été possibles devant une surdité modérée et des difficultés d'apprentissage sans signe évident de surcharge. D'autres déficits du métabolisme des molécules complexes ont été identifiés, dont un déficit en GM3 synthétase, une gangliosidose à GM2, des déficits de synthèse du GPI-anchor et de la déglycosylation des protéines. Enfin, on note deux cas de déficits mitochondriaux (en co-enzyme Q10 et de la fission mitochondriale). Ces différents diagnostics n'avaient pas été évoqués spécifiquement lors du bilan initial principalement à cause de l'atypie ou de l'aspécificité des symptômes ou à une présentation plus modérée. A noter que parmi ces 20 patients, 11 se présentaient avec une déficience intellectuelle et une épilepsie de sévérité variable, phénotype fréquent chez les patients porteurs d'EIM dans cette série. De plus, dans au moins 9 maladies, aucun biomarqueur spécifique sanguin ou urinaire n'était disponible rendant impossible le diagnostic biochimique par simple screening métabolique. Au total, cette étude souligne l'intérêt de l'exome dans le diagnostic des EIM avec un rendement de 3.6% et ce malgré l'absence d'élément clinico-biologique évocateur d'EIM et des phénotypes aspécifiques. En effet, le rendement rapporté de la stratégie standard n'était que de 0.8% dans ces mêmes indications

CO008 : Etude des gènes d'épilepsie monogénique chez 700 patients ayant une encéphalopathie épileptique : 28% de diagnostics, dont 4% de CNV et 3,5% d'anomalies en mosaïque

Auteurs :

Caroline Nava (1, 2), Audrey Labalme (3), Cyril Mignot (4), Nicolas Chatron (3, 5), Lies Van de Velde Boermans (6), Vincent des Portes (7, 8), Julie Bogoin (6), Dorothée Ville (7), Julitta de Bellescize (9), Marie-Christine Nougues (10), Diane Doummar (10), Alexandra Afenjar (11), Anne-Lise Poulat (7), Bénédicte Héron (10), Boris Keren (1), Cécile Freihuber (12), Eleni Panagiotakaki (9), Stéphanie Valence (10), Alexis Arzimanoglou (9), Delphine Héron (4), Christel Depienne (13, 14), Damien Sanlaville (3, 5), Eric Leguern (6, 2), Gaetan Lesca (3, 5)

1. APHP, Département de génétique, UF de génomique du développement, Hôpital de La Pitié-Salpêtrière, 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, Paris, France
3. Département de Génétique Médicale, HCL Groupement Hospitalier Est, Lyon, France
4. APHP, Département de Génétique ; Centre de Référence Déficiences Intellectuelles de Causes Rares ; GRC UPMC , Hôpital de La Pitié-Salpêtrière, Paris, France
5. CNRS UMR 5292, INSERM U1028, CNRL, et Université Claude Bernard Lyon 1, HCL Groupement Hospitalier Est, Lyon, France
6. Département de Génétique, Hôpital de La Pitié-Salpêtrière, Paris, France
7. Service de Neuropédiatrie, HCL Groupement Hospitalier Est, Lyon, France
8. Université Claude Bernard Lyon 1, HCL Groupement Hospitalier Est, Lyon, France
9. Epilepsie, sommeil et explorations fonctionnelles neuropédiatriques, HCL Groupement Hospitalier Est, Lyon, France
10. APHP, Service de Neuropédiatrie, Hôpital Armand Trousseau , Paris, France
11. APHP, Service de Génétique, CRMR malformations et maladies congénitales du cervelet, Hôpital Armand Trousseau , Paris, France
12. Service de Neuropédiatrie, Hôpital Armand Trousseau , Paris, France
13. CNRS UMR 5292, INSERM U1028, CNRL, et Université Claude Bernard Lyon 1, Institut du Cerveau et de la moelle épinière, Paris, France
14. Institute of Human Genetics, University Hospital Essen, University of Duisburg-Essen, Essen, Allemagne

Mots clefs : épilepsie, séquençage haut débit, panel, diagnostic

Résumé :

L'épilepsie est un ensemble de pathologies neurologiques qui touche 0,7% de la population mondiale. Les encéphalopathies épileptiques constituent un groupe hétérogène de pathologies sévères, débutant généralement dans la petite enfance et dont l'évolution est souvent défavorable. Dans ce contexte, un diagnostic génétique précoce peut être important pour la prise en charge, le pronostic et le conseil génétique.
Méthode : Une collaboration entre les équipes de Lyon et de Paris (La Pitié-Salpêtrière), a permis la mise au point d'un panel de 90 gènes dont les mutations sont responsables d'épilepsies monogéniques. L'analyse a été réalisée avec la technologie de capture SeqCapEZ de Roche®. Le séquençage a été réalisé sur une flow-cell « mid output » (Illumina®) sur un Miseq ou un Nextseq (Illumina®) en multiplexant les échantillons par 24. La profondeur moyenne de lecture était de 300X et plus de 99% des bases étaient couvertes à plus de 30X. Patients : L'ADN de 700 patients évalués au préalable par des neuropédiatres et des généticiens a été analysé.
Résultats : Des variants pathogènes ont été identifiés chez 196/700 patients (28% des cas), il s'agissait de mutations autosomiques dominantes, principalement *de novo*, dans 142 cas (72%), de mutations récessives dans 18 cas (10%) et de mutations sur le chromosome X dans 36 cas (18%).
Les gènes les plus fréquemment mutés étaient *SCN1A* (n=31), *KCNQ2* (n=22), *SCN2A* (n=13), *SCN8A* (n=11), *KCNT1* (n=9), *CDKL5* (n=9), *ATP1A3* (n=8), *PCDH19* (n=7), *SYNGAP1* (n=6), *GRIN2A* (n=6), *STXBP1* (n=6) et *WWOX* (n=6). Le taux de diagnostic était beaucoup plus élevé en cas de début néonatal (45% de diagnostic en cas de début avant 1 mois) ou de début précoce (40% de diagnostic en cas de début entre 1 et 3 mois) ou chez les patients présentant un syndrome de Dravet ou une épilepsie sensible à la fièvre (47% de diagnostic). Au contraire, le taux de diagnostics était faible chez les patients ayant un syndrome de West (14% de diagnostic) ou une épilepsie débutant après 2 ans (14% de diagnostic).
Par ailleurs, le Séquençage à haut débit, dans nos conditions expérimentales qui assuraient une bonne couverture des régions d'intérêt, a permis la mise en évidence de délétions ou duplications d'exons dans 8 cas et de variants pathogènes en mosaïque chez 7 patients, dont certains présentaient un phénotype atténué.
Conclusion : L'analyse des gènes de ce panel permet d'augmenter le taux diagnostique des épilepsies monogéniques (28% de diagnostic), notamment lorsque les crises débutent au cours des premiers mois. L'identification de la mutation responsable de l'épilepsie permet d'améliorer le conseil génétique et, dans certains cas, la prise en charge thérapeutique. L'identification d'une mutation homozygote dans le gène *PNPO* chez une patiente ayant une épilepsie néonatale pharmacorésistante a permis

d'adapter le traitement (Phosphate de Pyridoxal), ce qui a entrainé un contrôle satisfaisant de l'épilepsie et une reprise du développement psychomoteur.

Communication Communication Session Simultanée

Benedicte GERARD

CO009a : Diagnostic de la déficience intellectuelle : leçons apprises et nouveaux enjeux

Auteurs :

Amelie PITON (1), Laura MARY (1), Claire FEGER (1), Celine CUNY (2), Marguerite MIGUET (1), Elsa NOURISSON (1), Jean MULLER (1), frederic TRAN MAU THEM (3), Aurelien CHARNOT (2), eric DAHLEN (2), Audrey SHALK (2), Imene BOUJELBENE (2), Jean-François DELEUZE (4), Anne BOLAND-AUGE (4), Jamel CHELLY (1), Jean Louis MANDEL (5), Bénédicte GERARD (6)

1. Laboratoire de Diagnostic Génétique, CHRU strasbourg, Strasbourg, France
2. Laboratoire de génétique , CHU de Strasbourg, Strasbourg, France
3. Laboratoire de génétique , CHU de Dijon, DIJON, France
4. , CNG, Evry, France
5. Laboratoire de Diagnostic Génétique, CHRU strasbourg, , France
6. Laboratoire de Diagnostic Génétique, CHRU strasbourg, strasbourg, France

Mots clefs : Deficience intellectuelle-diagnostic-sequençage haut débit

Résumé :

Les données cumulées issues de l'analyse de nos panels ciblés de gènes de déficience intellectuelle (DI)(275, 450 puis 520 gènes) sur les 1028 diagnostics rendus à Strasbourg permettent de dresser une cartographie des causes moléculaires de DI sans orientation clinique évidente et d'envisager les prochaines étapes pour améliorer la qualité du diagnostic et de la prise en charge de ces familles en France. Le diagnostic moléculaire a été établi avec certitude dans 24% des cas de notre cohorte: 246 variations de classe 4 et 5 ont été rendues par notre laboratoire. Des mutations de classe 3 ont également été identifiées dans 9% des cas, 8 d'entre elles sont en cours de reclassification car fortement suspects de pathogénicité. Ce taux de diagnostic est significativement plus important chez les filles (31%), en cas de DI avec troubles du sommeil (30%) ou en cas de DI avec un retard de croissance postnatale (31%). Il est moins important pour les garçons (21%) et les DI légères (16%). Le taux ne semble pas être modifié par les éléments suivants : épilepsie, micro ou macrocéphalie, retard de langage, TSA, troubles de l'attention, hypotonie, RCIU, ou IRM normal ou anormale.
Le Top 10 des gènes les plus fréquemment mutés dans notre cohorte regroupe TCF4, GRIN2B, SHANK3, KMT2A, DDX3X, KAT6B, ANKRD11, ARID1B, DYRK1A, MECP2. De nouveaux gènes ont rejoint le groupe des gènes de DI confirmés (BPRF1, MYT1L, POGZ, AUTS2) et d'autres sont en cours de caractérisation (AGO1). On observe une transmission AD dans 66 % des cas et liée à l'X dans 25 % des cas. Très peu de mutations dans des gènes à transmission AR ont été identifiés (ST3GAL5, TRAPCC9, MED23). Le taux de double diagnostic est également faible (1 seul cas avéré) ainsi que les découvertes incidentes (5 cas). Des variations dans des gènes à pénétrance incomplète commencent à émerger (ANKRD11, KANSL1, DYNC1H1, KAT6A, MBD5). Le taux de néomutation reste très élevé (70%). L'analyse par trio (en simplex ou en pool) semble donc particulièrement efficiente vu le débit attendu de l'analyse (performance d'identification du variant, vérification du trio, délai de rendu). Pour ces familles, un DPN est fréquemment réalisé malgré le faible risque de récurrence. Une approche universelle, non invasive, basée sur une capture de l'ADN plasmatique maternel est en cours de mise en place pour éviter ces ponctions fœtales sur faible risque.
Ces avancées permettent d'améliorer le diagnostic des patients atteints de DI sans orientation clinique : d'un taux initial de 15-20 % (ACPA + analyse ciblée de gènes), le taux cumulé atteint 40-45 % avec notre panel. Si l'analyse de l'exome en trio permet de gagner clairement encore 10-15 % supplémentaire, l'évaluation de l'approche génome entier semble constituer la prochaine étape pouvant permettre de faire un gain significatif dans le cadre de ce diagnostic de par sa capacité à identifier d'autres mécanismes chromosomiques inaccessibles à des techniques basées sur une capture préalable.

CO009b : Déficiences intellectuelles et troubles du spectre autistiques : quelle stratégie pour le diagnostic moléculaire ?

Auteurs :

Giulia Barcia (1), Marlène Rio (1), Sophie Rondeau (1), Ghislaine Royer (1), Adrienne Elmorjani (1), Mathieu Bernardelli (1), sylvain hanein (2), cécile fourrage (1), Christine Bole-Feysot (2), Patrick Nitschke (2), Sandrine Marlin (1), Anne Philippe (1), Laurence Robel (3), genevieve Baujat (1), Stanislas Lyonnet (1), Desguerre Isabelle (4), Valerie Cormier-Daire (5), Jeanne Amiel (1), Arnold Munnich (5), Laurence Colleaux (2), Julie Steffann (1), Jean-Paul Bonnefont (1)

1. Génétique Médicale, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France
2. Institut Imagine, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France
3. Service de pédopsychiatrie, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France
4. Neuropédiatrie, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France
5. Génétique Médicale, Hôpital Necker Enfants Malades, paris, France

Mots clefs : Déficience intellectuelle, troubles du spectre autistique, NGS

Résumé :

Introduction : Les déficiences intellectuelles (DI) et les troubles du spectre autistique (TSA) sont des pathologies génétiquement et cliniquement hétérogènes, souvent associées car 60% des patients avec TSA présente aussi une DI. Ces pathologies représentent le premier motif de consultation au sein du service de Génétique Clinique de l'Hôpital Necker (environ 400 patients par an). Les stratégies de WES/WGS ont montré leur efficacité pour l'identification des causes génétiques des DI et des TSA. Elles sont cependant couteuses, et entrainent la détection de variants incidents ou non sollicités. Pour ces raisons, la question de la pertinenece de leur application dans le contexte de diagnostic génétique hospitalier se pose.
Méthodes: Nous avons séquencé par NGS ciblé sur 253 gènes associés aux DI, 413 patients présentant une DI et/ou un TSA (379 singleton et 34 trios patient-parents, 246 garçons et 167 filles, âge moyen 12 ans).
Résultats: Pour tous les individus, la couverture des régions ciblées était > 99.8%. Nous avons identifié des variants pathogènes ou probablement pathogènes chez 22% des patients avec une majorité de variants survenus de novo (18%). Des variants de signification inconnue ont été mis en évidence chez 9% des patients. Le rendement diagnostique était plus élevé chez les patients avec DI syndromique (30%) et atteints d'épilepsie (32%) ; il était plus faible pour les patients issus de couples consanguins (9%). Cette approche a permis l'identification de délétions exoniques et de variants présents en taux faible de mosaïque.
Conclusions: Avec un rendement diagnostic de 22% dans une cohorte de 413 patient étudiés sur la période 2015-2017, la stratégie de NGS ciblé optimise le screening moléculaire des DI et des TSA. Cette approche « ciblé » réduit les côuts et le nombre de résultats incertains ou fortuits par rapport au WES et est préferable chez les patients avec DI/TSA syndromique. Une stratégie par WES pourrait par contre être plus pertinente chez les patients atteints de DI/TSA non syndromiques.

CO010 : 2 ans d'expérience de l'exome médical dans le diagnostic de la déficience intellectuelle au CHU de Rennes

Auteurs :

Christèle DUBOURG (1, 2), Wilfrid CARRE (1, 2), Mélanie FRADIN (3), Chloé QUELIN (3), Paul ROLLIER (1, 3), Mailys RUPIN (3), Florence DEMURGER (3), Hubert JOURNEL (4), Sylvie ODENT (3, 2), Laurent PASQUIER (5), Véronique DAVID (1, 2)

1. Service de Génétique Moléculaire et Génomique, CHU Rennes, Rennes, France
2. IGDR, UMR 6290 CNRS, Université de Rennes 1, Rennes, France
3. Service de Génétique Clinique, Centre de Référence Maladies Rares CLAD-Ouest, CHU Rennes, Rennes, France
4. Service de Génétique Clinique, CHBA Vannes, Vannes, France
5. Service de Génétique Clinique, Centre de Référence DI, CHU Rennes, Rennes, France

Mots clefs : exome, déficience intellectuelle, ADNP, POGZ

Résumé :

La déficience intellectuelle (DI) touche 1 à 3% de la population générale. Les techniques de séquençage de nouvelle génération (NGS) ont considérablement amélioré son diagnostic, notamment avec la mise en œuvre de séquençage de panels de gènes ciblés (panels DI44, DI275, DI459) et de séquençage d'exome entier (WES). Au CHU de Rennes, nous avons choisi une approche intermédiaire : l'exome médical, qui consiste à séquencer les exons de 5500 gènes OMIM à l'aide d'un kit de capture (Focused Exome Agilent).
Nous rapportons ici les résultats issus de l'analyse de 140 familles sur la période 2015-2017. Le modèle d'étude privilégié était le trio (enfant et parents).
Grâce à cette approche, nous avons mis en évidence 31% de variants de classes 5 et 4 (délétères et probablement délétères), 22% de classe 3 (VUS ou variants de signification clinique inconnue) et 47% de classes 2 et 1 (probables polymorphismes et polymorphismes reconnus).
Le panel ciblé DI44 n'aurait permis d'identifier que 14% de variants de classes 5 et 4, l'exome médical nous a donc permis de doubler le rendement diagnostique.
Les gènes impliqués sont très variés. Hormis les gènes du panel DI44, *ADNP* et *POGZ* sont ceux où le maximum de récurrence est observé même si celle-ci est faible.
L'implication définitive de certains variants peut requérir la mise en œuvre de tests fonctionnels :
1/ quand il s'agit de variants faux-sens dans un gène dont les variants reconnus délétères sont des variants non-sens ou frameshift (par exemple *MEF2C*),
2/ quand il s'agit de variants prédits délétères dans des gènes non formellement reconnus comme étant impliqués dans la DI à ce jour (par exemple *KMT5B*).
L'utilisation de l'exome médical dans le diagnostic étiologique de la DI constitue un bon compromis entre les panels ciblés et le WES : avec une nécessité de stockage informatique moins importante que le WES, une interprétation moins délicate (en évitant des variants dans des gènes totalement inconnus) et un prix plus abordable, il offre un rendement diagnostique très satisfaisant actuellement.

CO011 : Whole exome vs grand panel dans la déficience intellectuelle : un taux d'élucidation diagnostique multiplié par 2

Auteurs :

Caroline Nava (1, 2), Cyril Mignot (3), Julien Buratti (1), Claude Estrade (1), Sabina Karagic (1), Aurélie Lafitte (1), Elodie Lejeune (1), Corinne Mach (1), Valérie Olin (1), Alinoe Lavillaureix (3), Alexandra Afenjar (4), Diane Doummar (5), Marie-Laure Moutard (5), Thierry Billette de Villemeur (5), Marie-Christine Nougues (5), Stéphanie Valence (5), Bénédicte Héron (5), Rodriguez-Levi Diana (5), Lydie Burglen (6), Sandra Whalen (7), Damien Haye (3), Solveig Heide (3), Perrine Charles (3), Isabelle Marey (3), Christel Depienne (8, 9), Boris Keren (1), Delphine Héron (3)

1. APHP, Département de génétique, UF de génomique du développement, Hôpital de La Pitié-Salpêtrière, 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, Paris, France
3. APHP, Département de Génétique ; Centre de Référence Déficiences Intellectuelles de Causes Rares ; GRC UPMC , Hôpital de La Pitié-Salpêtrière, Paris, France
4. APHP, Service de Génétique, CRMR malformations et maladies congénitales du cervelet, Hôpital Armand Trousseau , Paris, France
5. APHP, Service de Neuropédiatrie, Hôpital Armand Trousseau , Paris, France
6. APHP, Service de Génétique, Hôpital Armand Trousseau , Paris, France
7. APHP, UF de Génétique clinique ; CRMR Anomalies du développement et syndromes malformatifs, Hôpital Armand Trousseau , Paris, France
8. CNRS UMR 5292, INSERM U1028, CNRL, et Université Claude Bernard Lyon 1, Institut du Cerveau et de la moelle épinière, Paris, France
9. Institute of Human Genetics, University Hospital Essen, University of Duisburg-Essen, Essen, Allemagne

Mots clefs : déficience intellectuelle, NGS, exome, panel, diagnostic

Résumé :

Plus de 1000 gènes sont connus dans la déficience intellectuelle (DI) et de nouveaux sont découverts très régulièrement. En raison de cette grande hétérogénéité génétique, les méthodes diagnostiques ciblées ont un intérêt souvent limité tandis que le Séquençage de Nouvelle Génération (NGS) a apporté un bénéfice considérable.
L'objectif de notre étude était d'évaluer le taux de diagnostic réalisé grâce au WES en trio dans la DI et de le comparer à celui obtenu avec un grand panel utilisé précédemment au laboratoire.

Patients et méthodes:
600 cas index, atteints de DI, ont été recrutés via la consultation de génétique. Tous avaient eu précédemment un bilan négatif incluant une ACPA et un X-fragile ainsi que pour certains des études ciblées. 263 patients, ont été initialement séquencés avec le panel TruSightOne (TS1) d'Illumina, commercialisé en 2015, comprenant les 4813 gènes impliqués en pathologie référencés dans OMIM. Pour les 373 patients suivants, nous avons réalisé un WES avec le kit MedExome de Roche. 36 patients ont été analysés successivement avec les 2 techniques. Les analyses ont été réalisées en trio ou en quatuor dans 348 cas et en duo (lorsque l'ADN d'un parent n'était pas disponible) dans 25 cas.

Résultats:
Notre taux diagnostique (variants classe 4 et 5) est de 21% (55/263) avec le TS1 et de 43% (159/373) avec le WES. 55% des diagnostics réalisés en WES concernent des gènes absents du TS1 car décrits depuis moins de 3 ans dans la DI. Chez les patients négatifs en TS1 puis analysés en WES, notre taux diagnostique est de 30% (11/36). De plus, 21 variants probablement pathogènes ont été identifiés en WES dans des gènes non encore publiés et qui font actuellement l'objet de collaborations internationales.
Lorsque l'analyse des parents n'était pas possible, notre taux diagnostique tombe à 20% (5/25) contre 44% (154/348) lorsque nous avons pu faire les analyses en trio.
Les 159 diagnostics en WES ont été faits dans 117 gènes différents, dont seulement 26 sont mutés chez au moins 2 cas index, témoignant de la grande hétérogénéité génétique de la DI. Les gènes les plus fréquemment mutés dans notre série sont *DDX3X, ADNP, KCNA2* et *TCF20* (n=4 pour chaque gène). Tous les variants pathogènes ont été validés lors de réunions de concertation pluridisciplinaire clinico-biologique.
Conclusion:
Plus de la moitié de nos diagnostics en WES n'auraient pas été réalisés avec le TS1, qui comprenait pourtant en théorie tous les gènes connus de DI lors de sa commercialisation. Cela s'explique par la découverte très rapide de nouveaux gènes dans la DI durant ces 3 dernières années, ce qui rend vite obsolète un panel de gènes, même exhaustif au moment de son design. C'est également probablement la raison de notre taux diagnostique légèrement supérieur à ceux de la littérature (30-40%). Cela donne un intérêt particulier au WES dans la DI qui, sans besoin de nouveau design, reste toujours à jour et voit son taux diagnostique augmenter avec les avancées scientifiques.

CO012 : De l'exome au génome pour le diagnostic de la déficience intellectuelle

Auteurs :

Benjamin Cogné (1), Sébastien Schmitt (1), Thomas Besnard (1), Sébastien Küry (1), Delphine Quinquis (1), Wallid Deb (1), Anne-Sophie Denommé-Pichon (2, 3), Marie-Laure Vuillaume (4, 5), Annick Toutain (4, 5), Dominique Bonneau (6, 7), Estelle Colin (6, 7), Laurent Pasquier (8, 9), Sylvie Odent (8, 9), Brigitte Gilbert-Dussardier (10, 11), Philippe Parent (12), Pierre Boisseau (1), Claire Beneteau (1), Sandra Mercier (1), Mathilde Nizon (1), Jean-François Deleuze (13), Richard Redon (14, 15), Bertrand Isidor (1), Stéphane Bézieau (1)

1. Service de génétique médicale, CHU de Nantes, Nantes, France
2. Service de génétique, CHU de Nancy, Vandœuvre-lès-Nancy, France
3. UMR U954, INSERM, Vandœuvre-lès-Nancy, France
4. Service de génétique, CHU de Tours, Tours, France
5. UMR U930, INSERM, Tours, France
6. Département de Biochimie et Génétique, CHU d'Angers, Angers, France
7. UMR 1083, INSERM, Angers, France
8. Service de Génétique Clinique, CHU de Rennes, Rennes, France
9. UMR 6290, CNRS, Rennes, France
10. Service de génétique, CHU de Poitiers, Poitiers, France
11. EA3808, Université de Poitiers, Poitiers, France
12. Génétique Médicale, CHRU de Brest, Brest, France
13. Centre National Génotypage, Institut de Génomique, CEA, Evry, France
14. INSERM, CNRS, l'Institut du Thorax, Université de Nantes, Nantes, France
15. L'institut du thorax, CHU de Nantes, Nantes, France

Mots clefs : exome, genome, variants structuraux, déficience intellectuelle, bioinformatique

Résumé :

La déficience intellectuelle (DI) a une prévalence estimée à 1% de la population. Aujourd'hui, plus de 1500 gènes ont été décrits comme responsables de DI. Dans un cadre diagnostic, certains gènes étant plus fréquemment mutés, la stratégie française prédominante consiste actuellement à analyser des panels composés de quelques dizaines à plusieurs centaines de gènes. Le séquençage de l'exome est une autre stratégie qui, au-delà de répondre à la problématique de l'hétérogénéité génétique, permet une analyse mise à jour régulièrement et un amincissement de la frontière avec la recherche. Au CHU de Nantes, nous avons fait le choix du séquençage de l'exome en solo dans le diagnostic de la DI, pour un nombre limité de patients, en sélectionnant les patients les plus sévères et les familles en demande d'un conseil génétique. Depuis fin 2015, nous avons analysé 164 cas index et avons établi un diagnostic certain ou probable pour 75 cas (45,7%). Certains patients ont pu être intégrés dans une cohorte décrivant un nouveau gène responsable de DI (*OTUD6B*, *EBF3*), et certains présentent des mutations *de novo* dans des gènes candidats (*KMT2C*, *SPTBN1*, *TENM2*, *DSCAM, PPP3CB*). Parallèlement à l'exome, le plan « France médecine génomique » promet un accès à court terme au séquençage du génome entier. Dans un cadre de recherche, nous avons obtenu un financement par la fondation maladies rares permettant le séquençage du génome en trio de 7 patients, recrutés après un exome trio négatif (projet HUGODIMS, recrutement du centre de référence CLAD-Ouest). Les premiers résultats ont montré (1) une translocation équilibrée *de novo* avec des points de cassure intergéniques dont la pathogénicité reste incertaine, (2) une inversion *de novo* de 2,1Mb impliquant le gène *FOXP1*, (3) deux patients avec des mutations *de novo* dans le gène *H3F3A*, dans un exon non couvert par exome, pour lequel une cohorte est en cours de publication et (4) une mutation *de novo* dans le gène *TFE3*, pour lequel une publication est également en cours. Au total, un diagnostic certain a pu être établi chez 4 patients. En conclusion, bien que l'exome apporte un rendement diagnostic déjà important, l'accès aux variants structuraux et la couverture plus homogène de la grande majorité des gènes de DI font certainement du séquençage du génome entier la future méthode de choix pour le diagnostic de la DI.

CO013 : Syndrome Kabuki et manifestations immunitaires: à partir d'une cohorte de 154 patients

Auteurs :

Henri MARGOT (1), Vincent GATINOIS (2, 3), Guilaine BOURSIER (4, 3), Helder FERNANDES (5), Elodie SANCHEZ (4, 3), Agnes GUICHET (6), Margaux SEREY (7), Philippe PARENT (8), Sacha WEBER (9), Virginie MAGRY (10), Mathilde LEFEVBRE (11), Klaus DIETERICH (12), Marie-line JACQUEMONT (13), Odile BOUTE (14), Thibaud ARMAND (15), Elisabeth SARRAZIN (16), Julie ROBBE (17), Godelieve MOREL (18), Mélanie FRADIN (19), Alice GOLDENBERG (20), Sarah BAER (21), Sophie JULIA (22), Annick TOUTAIN (23), Stanislas LYONNET (24), Yves PEREL (25, 5), Didier LACOMBE (1, 26), Nathalie ALADJIDI (25, 5), David GENEVIEVE (2, 27)

1. Génétique médicale, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France
2. Génétique médicale, CHU de Montpellier, Montpellier, France
3. INSERM U1183, Université de Montpellier, Montpellier, France
4. Département de Génétique médicale, maladie rares et medecine spécialisée, CHU de Montpellier, Montpellier, France
5. Centre de référence national des cytopénies auto-immunes de l'enfant, CEREVANCE, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France
6. Génétique médicale, CHU d'Angers, Angers, France
7. Génétique médicale, CHU de Besançon, Besançon, France
8. Génétique médicale, CHU de Brest, Brest, France
9. Génétique médicale, CHU de Caen, Caen, France
10. Génétique médicale, CHU de Clermont Ferrand, Clermont-ferrand, France
11. Génétique médicale, CHU de Dijon, Dijon, France
12. Génétique médicale, CHU de Grenoble, Grenoble, France
13. Génétique médicale, CHU de la Réunion, Saint-Pierre, France
14. Génétique médicale, CHU de Lille, Lille, France
15. Génétique médicale, CHU de Lyon, Lyon, France
16. Génétique médicale, CHU de Martinique, Fort de France, France
17. Génétique médicale, AP-HM, Marseille, France
18. Génétique médicale, CHU de Nice, Nice, France
19. Génétique médicale, CHU de Rennes, Rennes, France
20. Génétique médicale, CHU de Rouen, Rouen, France
21. Génétique médicale, CHRU de Strasbourg, Strasbourg, France
22. Génétique médicale, CHU de Toulouse, Toulouse, France
23. Génétique médicale, CHU de Tours, Tours, France
24. Génétique médicale, CHU Paris - Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
25. Hémato-Oncologie Pédiatrique, CHU de Bordeaux - Pellegrin - Hôpital des enfants, Bordeaux, France
26. INSERM U1211, Université de Bordeaux, Bordeaux, France
27. U1183, INSERM, Montpellier, France

Mots clefs : Syndrome Kabuki, Déficit immunitaire, Purpura thrombopénique idiopathique, Anémie hémolytique autoimmune, Maladie auto-immune, Cohorte.

Résumé :

INTRODUCTION: Le syndrome Kabuki (SK OMIM 147920 et 300128) est un syndrome poly-malformatif rare associant un aspect reconnaissable du visage, une déficience intellectuelle variable de modérée à sévère, et des malformations d'organes variées (squelettiques, cardiaques, uro-génitales). Deux gènes, *KMT2D* et *KDM6A,* sont aujourd'hui impliqués dans ce syndrome. Une prévalence accrue des manifestations immunologiques est également observée chez ces patients. Il s'agit avec l'atteinte cardiaque de l'une des atteintes qui peut grever un pronostic bon par ailleurs. Pourtant c'est aussi l'un des aspects les moins étudiés dans la littérature. L'objectif de ce travail est d'obtenir une estimation de l'incidence des manifestations immunologiques dans le SK, et de les décrire, afin de détecter les particularités de présentation, d'association phénotypique et de prise en charge thérapeutique sur une large cohorte française. **METHODOLOGIE**: Les 154 cas actuellement colligés de notre cohorte ont une clinique compatible ainsi qu'un diagnostic moléculaire (*KDM6A* ou *KMT2D*) qui établissent le diagnostic de SK. Nous avons demandé aux 32 centres ayant participé au *PHRC Kabuki* de remplir un questionnaire de façon rétrospective. Nous avons ainsi évalué la survenue d'un purpura thrombopénique idiopathique (PTI), d'une anémie hémolytique auto-immune (AHAI), d'une autre maladie auto-immune (MAI) ou d'un déficit immunitaire commun variable (DICV) chez les patients. **RESULTATS**: On retrouve chez 7.79% des patients un PTI, dont une moitié est chronique (> 12 mois). 3.25% ont eu une AHAI, dont un patient décédé d'hémolyse aigüe. Des infections à répétions sont présentes chez 36.59 % des SK, principalement ORL durant la petite enfance. D'autres infections plus graves à type d'atteinte pulmonaire, digestive, d'abcès cérébraux ou d'ostéomyélite sont également observées. Un DICV est observé chez 32.14% des patients : une hypogammaglobulinemie, associée à des sérologies vaccinales non-protectrices et une lymphopénie. 11.38 % des patients ont

une MAI, le plus souvent des manifestations dermatologiques bénignes telles qu'un psoriasis ou un vitiligo. Des cas de thyroïdite auto-immune et un cas de diabète type 1 sont également retrouvés dans notre cohorte. Des complications immunologiques sont responsables du décès de 2 patients de notre cohorte. **CONCLUSION**: Notre étude montre une incidence élevée des manifestations immunitaires chez les patients SK de notre cohorte française. Cette surreprésentation pourrait s'expliquer car le complexe formé par KMT2D à un rôle central dans la maturation des lymphocytes T helper type 2. A noter le nombre important de données biologiques manquantes dans notre étude, qui indique que le phénotype dysimmunitaire du SK est peut-être sous-estimé. Notre étude montre pourtant que l'atteinte immunitaire est fréquente et potentiellement sévère.

Kabuki assises.docx

CO014 : GREB1L, un nouveau gène d'agénésie rénale bilatérale chez l'homme et la souris

Auteurs :

Lara De Tomasi (1), Pierre David (2), Camille Humbert (3), Flora Silbermann (1), Christelle Arrondel (1), Frédéric Tores (4), Stéphane Fouquet (5), Audrey Desgrange (6), Christine Bole-Feysot (7), Patrick Nitschké (8), Joëlle Roume (9), Marie-Pierre Cordier (10), Christine Pietrement (11), Bertrand Isidor (12), Philippe Khau Van Kien (13), Marie Gonzales (14, 15), Marie-Hélène Saint-Frison (16), Jelena Martinovic (17), Robert Novo (18), Juliette Piard (19), Christelle Cabrol (19), Hubert Journel (20), Jacqueline Aziza (21), Laurent Gavard (22), Marie-Hélène Said-Menthon (23), Laurence Heidet (24), Sophie Saunier (1), Cécile Jeanpierre (3)

1. Laboratoire des maladies rénales héréditaires , Inserm U1163 - Institut Imagine -Université Paris Descartes-Sorbonne Paris Cité, Paris, France
2. Platforme de transgenèse, Inserm U1163 - Institut Imagine -Université Paris Descartes-Sorbonne Paris Cité, Paris, France
3. Laboratoire des Maladies Rénales Héréditaires, Inserm U1163, Institut Imagine, Université Paris Descartes-Sorbonne Paris Cité, Paris, France
4. Plateforme de Bioinformatique, Inserm U1163 - Institut Imagine -Université Paris Descartes-Sorbonne Paris Cité, P, France
5. Plateforme d'Imagerie, UMR_S968 Inserm, Institut de la Vision, Paris, France
6. Laboratory of Heart Morphogenesis, Inserm U1163 - Institut Imagine -Université Paris Descartes-Sorbonne Paris Cité, Paris, France
7. Plateforme de Génomique, Inserm U1163 - Institut Imagine -Université Paris Descartes-Sorbonne Paris Cité, Paris, France
8. Plateforme de Bioinformatique, Université Paris Descartes-Sorbonne Paris Cité, Institut Imagine, Paris, France
9. Unité de Génétique Médicale, CHI Poissy - St Germain en Laye, Poissy, France
10. Service de Génétique, groupement hospitalier Est, Bron, France
11. Unité de Néphrologie Pédiatrique , CHU Reims, Reims, France
12. Service de Génétique Médicale, CHU Nantes, Nantes, France
13. Unité de Génétique Médicale, CHU Carémeau, Nimes, France
14. Département de Génétique Médicale, AP-HP, Hôpital Armand Trousseau, Paris, France
15. Unité d'EmbryoFœtopathologie, Ap-HP, Hôpital Necker-Enfants malades, Paris , France
16. Département de Génétique, Unité de Fœtopathologie, AP-HP, Hôpital Robert Debré, Paris, France
17. Unité de Foetopathologie, AP-HP, Antoine Béclère Hospital, Clamart, France
18. Service de Néphrologie Pédiatrique, CHU de Lille, Hôpital Jeanne de Flandre, Lille, France
19. Centre de Génétique Humaine, CHU Besançon, Université de Franche-Comté, Besançon, France
20. Service de Génétique Médicale, Hôpital Chubert, Vannes, France
21. Département d'Anatomie et cytologie pathologiques, IUCT-Oncopole, Toulouse, France
22. Service de Gynécologie-Obstrétrique, Hôpital Louis Mourier, Colombes, France
23. Service de Pédiatrie, Hôpitaux du Léman, Thonon les Bains, France
24. Service de néphrologie pédiatrique, Centre de Référence des Maladies Rénales de l'Enfant et de l'Adulte (MARHEA), AP-HP, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France

Mots clefs : Rein, développement, agénésie rénale, souris CRISPR, épithélialisation

Résumé :

Les anomalies congénitales des reins et des voies urinaires (CAKUT) regroupent un spectre d'anomalies du développement rénal incluant agénésies, hypoplasies et dysplasies. Elles constituent une cause majeure d'insuffisance rénale chez l'enfant, et d'interruption médicale de grossesse pour les formes les plus graves. Des mutations dans plus de 50 gènes ont été rapportées dans des formes de CAKUT isolées ou syndromiques. Cependant, les causes génétiques des agénésies rénales bilatérales restent largement méconnues.
Par séquençage d'exome total ou ciblé de 183 cas non apparentés de formes familiales et/ou sévères de CAKUT, nous avons identifié 16 variants hétérozygotes dans le gène *GREB1L* (Growth Regulation By Estrogen In Breast Cancer 1-Like). Ces variants étaient soit absents dans la base de données GnomAD (4 mutations perte-de-fonction et 10 faux-sens), soit présents avec des fréquences très faibles (2 faux-sens). Douze d'entre eux étaient présents chez des fœtus avec agénésie rénale bilatérale, associée à une agénésie utérine chez les fœtus de sexe féminin. Parmi les autres anomalies extrarénales, deux fœtus présentaient des anomalies cardiaques. Dans 11 des 12 familles pour lesquelles l'ADN parental était disponible, nous avons montré que la mutation venait de la mère, présentant ou non un phénotype CAKUT et/ou une anomalie utérine de faible gravité.
GREB1L est un gène de fonction inconnue, décrit comme cible de l'acide rétinoïque, une voie de signalisation cruciale pour le développement. Nous avons montré par hybridation *in situ* que ce gène est exprimé lors des stades précoces de la néphrogenèse. Nous avons généré un modèle de souris invalidé pour *Greb1l* par CRISPR-Cas9. Les souris homozygotes meurent *in utero.* Les embryons *Greb1l*$^{-/-}$ prélevés à E13.5 présentent tous une taille réduite et une exencephalie. L'analyse par immunofluorescence et transparisation nous a permis de montrer l'absence de reins ainsi que des canaux de Wolff et de Müller chez tous les embryons *Greb1l*$^{-/-}$ males et femelles (marquage Pax2), ainsi qu'une anomalie de la formation des testicules (marquage Sox9). Ce dernier résultat suggère que l'absence de transmission paternelle dans les familles puisse s'expliquer par

une diminution de la fertilité masculine. Nous avons également montré que les embryos *Greb1l*$^{/-}$ présentent tous une anomalie cardiaque de type "topsy-turvy". En parallèle, nous avons généré un modèle de cellules rénales de souris mIMCD3 invalidé pour *Greb1l* et montré des anomalies d'épithélialisation en culture 3D. Ce modèle est actuellement utilisé pour valider l'effet des mutations faux-sens identifiées.
Cette étude démontre que *GREB1L* joue un rôle majeur au cours du développement urogénital précoce et met en évidence une nouvelle cause génétique pour les agénésies rénales bilatérales. Des études sont maintenant nécessaires pour caractériser les voies de signalisation régulées par *GREB1L* lors du développement urogénital.

De Tomasi-Assises de génétique 2018.docx

CO015 : Un nouveau syndrome associant déficience intellectuelle et malformation craniofaciale par mutation tronquante, de novo de MN1 et probable effet gain de fonction ou dominant négatif

Auteurs :

Chris Mak (1), Angela Lin (2), Amanda Barone (3), Megan Cho (4), Valérie Cormier-Daire (5), Geraldine Viot (6), Francesca Filippini (5), Karen Gripp (7), Trevor Hoffman (8), Shelagh Joss (9), Sarina Kant (10), Davor Lessel (11), Chumei Li (12), Thierry Bienvenu (13), Stanislas Lyonnet (14), Michael Parker (15), Joan Stoler (16), David Viskochil (17), James Weisfeld-Adams (18), Jeanne Amiel (14), Brian Chung (1), Chris Gordon (14)

1. , University of Hong Kong, Hong Kong, Hong Kong
2. , Harvard Medical School, Boston, Etats-Unis
3. , The Children's Hospital of Philadelphia, Philadelphia, Etats-Unis
4. , GeneDx, Gaithersburg, Etats-Unis
5. , Institut Imagine, Paris, France
6. , Hôpital américain de Paris, Paris, France
7. , AI duPont Hospital for Children, Wilmington, Etats-Unis
8. , Southern California Kaiser Permanente Medical Group, Anaheim, Etats-Unis
9. , West of Scotland Clinical Genetics Service, Glasgow, Royaume Uni
10. , Leiden University Medical Center, Leiden, Pays-Bas
11. , Institute of Human Genetics, Hamburg, Allemagne
12. , McMaster University, Hamilton, Canada
13. , Institut Cochin, Paris, France
14. Institut Imagine, Hopital Necker-Enfants Malades, Paris, France
15. , Northern General Hospital, Sheffield, Royaume Uni
16. , Boston Children's Hospital, Boston, Etats-Unis
17. , University of Utah, Salt Lake City, Etats-Unis
18. , University of Colorado, Denver, Etats-Unis

Mots clefs : MN1, malformation craniofaciale, déficience intellectuelle

Résumé :

Le gène meningioma 1 (*MN1*) code pour un co-régulateur transcriptionel sans homologie avec d'autres protéines. Un gène de fusion de *MN1* avec *ETV6* par translocation somatique a été rapporté dans la leucémie myéloïde aiguë. Chez la souris, *Mn1* est nécessaire au développement du palais et de l'ossification endomembraneuse du crâne. Nous avons identifié plusieurs mutations tronquantes *de novo* de *MN1*, dont une récurrente, chez 13 individus présentant une dysmorphie faciale reconnaissable avec hypoplasie de l'étage moyen de la face et dysplasie du pavillon des oreilles, et une déficience intellectuelle moyenne à sévère. *MN1* est composé de deux exons. Toutes les mutations, y compris le variant récurrent p.Arg1295* observé chez 7/13 individus, se situent dans le deuxième exon ou dans la région 3' de l'exon 1. Leurs positions prédisent un échappement au mécanisme de « nonsense-mediated mRNA decay », et ceci a pu être confirmé sur fibroblastes chez un individu. Des études antérieures ont décrit de grandes délétions incluant *MN1* chez des individus présentant des anomalies neurodéveloppementales de sévérité variable et une dysmorphie faciale non spécifique et différente de celle que présentent les patients décrit ici. Nous proposons que le syndrome défini ici ne soit pas la conséquence d'une perte de fonction par haploinsufisance de *MN1*, mais celle d'une protéine MN1 tronquée de sa partie C-terminale avec pour conséquence un effet dominant négatif ou gain de fonction. Les 20 acides aminés de la région C-terminale sont hautement conservés et n'ont pas d'homologie à un domaine connu. Nos résultats renforcent l'intérêt de l'étude du rôle de MN1 et de son domaine C-terminale en particulier dans le développement des structures craniofaciales et du système nerveux central.

MN1 abstract assises 2018-ja modifs accpté.docx

CO016 : Apport du séquençage haut débit d'exome dans les syndromes polymalformatifs fœtaux en pratique diagnostique.

Auteurs :

Mathilde LEFEBVRE (1, 2), yannis duffourd (1), Ange-Line Bruel (3), Mirna Assoum (3), Paul Kuentz (3), Elise Schaefer (4), Salima El Chehadeh (4), Cristina Antal (5), Valérie Kremer (6), Françoise Girard-Lemaitre (6), Jean-Louis Mandel (7), Daphné Lehalle (8), Nolwenn Jean-Marçais (8), Nada houcinat (8), Sébastien Moutton (8), Christophe Philippe (3), Antonio Vitobello (3), Frederic Tran-Mau-Them (3), Nathalie Marle (9), Laetitia Lambert (10), Philippe Jonveaux (11), Jean-Francois Deleuze (12), Céline Bonnet (11), Robert Olaso (12), Anne Boland (12), Foliguet Bernard (13), Jean-Pierre Mazutti (13), Emmanuelle Ginglinger (14), Eric Jeandidier (15), Dominique Gaillard (16), Elisabeth Alanio (17), Celine Poirisier (18), Anne-Sophie Lebre (19), Francine Arbez-Gindre (20), Sylvie Odent (21), Chloé Quelin (21), Melanie Fradin (21), Marjolaine Willems (22), David Genevieve (22), Nicole Bigi (22), Marie-Josée Perez (22), Philippe Loget (23), Sophie Blesson (24), Christine Francannet (25), Anne-Marie Beaufrere (26), Sophie Patrier (27), Alice Goldenberg (28), Anne-Marie Guerrot (29), Nicole Laurent (30), Julien THEVENON (1, 31), Laurence FAIVRE (1, 2), Christel THAUVIN-ROBINET (1, 2)

1. Inserm – UB UMR 1231 GAD « Génétique des Anomalies du Développement », Dijon, France , Université de Bourgogne Franche Comté, dijon, France
2. Centre de Génétique et Centre de Référence Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs de l'Est, FHU-TRANSLAD, CHU de Dijon, dijon, France
3. Inserm – UB UMR 1231 GAD « Génétique des Anomalies du Développement », Dijon, France , Université de Bourgogne Franche Comté, Dijon, France
4. Centre de génétique, CHRU de Strasbourg, Strasbourg, France
5. Service d'Anatomie et Cytologie Pathologique, CHRU de Strasbourg, Strasbourg, France
6. service de cytogénétique, CHRU de Strasbourg, Strasbourg, France
7. nstitut de génétique et de biologie moléculaire et cellulaire, Université de Strasbourg, Strasbourg, France
8. Centre de Génétique et Centre de Référence Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs de l'Est, FHU-TRANSLAD, CHU de Dijon, Dijon, France
9. service de cytogénétique, CHU de Dijon, Dijon, France
10. Centre de génétique, CHU de Nancy, Nancy, France
11. service de cytogénétique, CHU de Nancy, Nancy, France
12. CNRGH, CNRGH, Evry, France
13. Service d'Anatomie et Cytologie Pathologique, CHU de Nancy, Nancy, France
14. Centre de génétique, CH de Mulhouse, Mulhouse, France
15. service de cytogénétique, CH de Mulhouse, Mulhouse, France
16. Centre de génétique, CHU de Reims, Reims, France
17. Service de Génétique et procréation, CHU de Reims, Reims, France
18. service de cytogénétique, CHU de Reims, Reims, France
19. Service de biologie moléculaire, CHU de Reims, Reims, France
20. Service d'Anatomie et Cytologie Pathologique, CHU de Besancon, Besancon, France
21. Centre de génétique, CHU de Rennes, Rennes, France
22. Centre de génétique, CHU de Montpellier, Montpellier, France
23. Service d'Anatomie et Cytologie Pathologique, CHU de Rennes, Rennes, France
24. Centre de génétique, CHU de Tours, Tours, France
25. Centre de génétique, CU Clermont-Ferrand, Hopital d'Estaing, Clermont Ferrand, France
26. Service d'Anatomie et Cytologie Pathologique, CHU Clermont-Ferrand, Hopital d'Estaing, Clermont-Ferrand, France
27. Service d'Anatomie et Cytologie Pathologique, CHU de Rouen, Rouen, France
28. Centre de génétique, CHU de Rouen, rouen, France
29. Centre de génétique, CHU de Rouen, Rouen, France
30. Service d'Anatomie et Cytologie Pathologique, CHU de Dijon, Dijon, France
31. Service de Génétique et procréation, CHU Grenoble-Alpes, Grenoble, France

Mots clefs : foetus, syndrome polymalformatif, exome, séquençage haut débit

Résumé :

Les syndromes polymalformatifs sont définis par l'association de deux malformations ou plus. Dans ces syndromes, les causes génétiques sont fréquentes, avec un risque éventuel de récidive pour les familles, à l'origine d'une très forte demande de conseil génétique. La stratégie diagnostique actuelle (examen foetopathologique, cytogénétique et examens ciblés de biologie moléculaire) 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 précis, ni de diagnostic anténatal génétique lors de futures grossesses. L'objectif de notre étude est donc d'étudier l'apport du séquençage

haut débit d'exome (SHD-E) dans le diagnostic étiologique de 100 fœtus atteints de syndromes polymalformatifs non étiquetés après un examen fœtopathologique et radiologique complet, de même qu'une ACPA normale (étude FOETEX).
Nous avons réalisé un SHD-E en solo chez 100 fœtus polymalformés provenant de 10 centres de diagnostic prénatal en France. L'analyse a été ciblée initialement sur les gènes OMIM puis secondairement étendue à l'ensemble des gènes. La confirmation des variations et la ségrégation familiale ont été réalisées par séquençage Sanger.
Les 100 fœtus présentaient une dysmorphie faciale (50%), des troubles de croissance (39%) et des malformations cérébrales (46%), cardiaques (38%), osseuses (33%), urogénitales (27%), digestives (23%), de l'appareil respiratoire (21%) et des extrémités (15%). Le SHD-E a permis d'identifier une/des variation(s) causale(s) chez 20% des fœtus, des variations de signification inconnue chez 5% des fœtus et des variations dans des gènes candidats chez 5% des fœtus. Parmi les variations causales, la majorité était de transmission autosomique récessive (56%). Ce taux diagnostique (20%) s'avère nettement inférieur au rendement du SHD-E dans les cohortes post-natales (30-35%), probablement lié aux phénotypes extrêmes, atypiques ou aspécifiques identifiés en fœtopathologie, à l'absence des données neurodévelopementales dans cette population et aux peu d'études réalisées sur des cohortes foetales. Un net excès de variations récessives a été identifié dans cette étude (56% vs 28% dans d'autres études). Le fort taux de récidive dans notre cohorte (10%) et le taux de consanguinité connue (4%) ne permettent pas à eux seul d'expliquer cet excès.
En conclusion, l'efficacité diagnostique du SHD-E en solo chez les fœtus apparait inferieure à la période post-natale car les corrélations génotypes-phénotypes, majeures pour une étude en solo, s'avèrent plus difficiles en fœtopathologie. Une relecture en trio (après SHD-E secondaire des parents) des SHD-E fœtaux initialement négatifs en solo permettra sans doute d'augmenter ce rendement diagnostique et d'identifier de nouveaux gènes candidats.

CO017 : Description d'un nouveau syndrome autosomique récessif nommé Ostéo-Oto-Hépato-Entérique (O2HE) secondaire à des mutations perte de fonction du gène UNC45A

Auteurs :

Laurence Faivre (1, 2), Clothilde Esteve (3), Ludmila Francescatto (4), Perciliz L Tan (4, 5), Aurélie Bourchany (6, 7), Cécile Delafoulhouze (8), Evelyne Marinier (9), Patrice Bourgeois (3, 8), Angeline Bruel (10), Yannis Duffourd (11, 6), Olivier Goulet (12), Emmanuel Gonzales (13), Frédéric Huet (7), Caroline Lacoste (14), Raphaëlle Maudinas (7), Jean-Baptiste Rivière (1, 15), Bertrand Roquelaure (8), Jacques Sarles (13), Sabine Saigaudy (8), Elodie Savajol (7), Christel Thauvin-Robinet (1, 6), Julien Thevenon (11, 15), Nicolas Levy (3, 8), Catherine Badens (3, 8), Jean-Pierre Hugot (9), Nicholas Katsanis (4, 5), Alexandre Fabre (3, 8)

1. FHU TRANSLAD, CHU Dijon, Dijon, France
2. Centre de référence Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs, CHU Dijon, Dijon, France
3. GMGF, Aix Marseille Univ, Marseille, France
4. Center for Human Disease Modeling, Duke University, Durham, Etats-Unis
5. Department of Cell Biology, Duke University Medical Center, Durham, Etats-Unis
6. UMR 1231 équipe GAD, Génétique des Anomalies du Développement, Université de Bourgogne Franche-Comté, Dijon, France
7. Serivce de pédiatrie, CHU Dijon, Dijon, France
8. Hôpital d'Enfants de La Timone, AP-HM, Marseille, France
9. Gastropédiatrie, CHU Robert Debré, Paris, France
10. UMR Inserm 1231 GAD « Génétique des Anomalies du Développement », CHU Dijon, Dijon, France
11. FHU TRANSLAD, Centre Hospitalier Universitaire et Université de Bourgogne-Franche Comté, Dijon, France
12. Gastropédiatrie, CHU Paris - Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
13. Hépatopédiatrie, GHU Paris-Sud - Hôpital de Bicêtre, Paris, France
14. Hôpital d'Enfants de La Timone, AP-HM, Dijon, France
15. UMR Inserm 1231 GAD « Génétique des Anomalies du Développement », Université de Bourgogne Franche-Comté, Dijon, France

Mots clefs : Hépato-gastro-pédiatrie, exome, diarrhée congénitale, cholestase héréditaire

Résumé :

L'association de la diarrhée congénitale et de la cholestase héréditaire est rare chez l'enfant, et les bases moléculaires de nombreux patients restent inconnues. Récemment, certains gènes identifiés dans les cholestases héréditaires ont été identifiés dans des familles avec diarrhée congénitale et inversement. À titre d'exemple, des variants hétérozygotes composites ou homozygotes *MYO5B* ont été initialement identifiées comme une cause de diarrhée congénitale avec atrophie microvillositaire, puis plus tard de cholestases congénitales isolées ou associées, expliqué par le rôle de ce gène dans la polarisation des hépatocytes et des entérocytes. La même démonstration a ensuite été faite pour les gènes *ABCB11*, *TTC37* et *SKIV2L*.
Nous avons étudié par séquençage de l'exome quatre filles issus de 3 familles différentes, âgés de 4 à 23 ans, présentant une constellation phénotypique comprenant cholestase, diarrhée congénitale, déficience auditive et fragilité osseuse, ne rentrant dans aucun des cadres diagnostiques connus. Aucun des patients ne présentait l'ensemble des signes cliniques, et le mode d'entrée était la diarrhée congénitale sévère avec atrophie microvillositaire pour 2 des patients, nécessitant toujours une nutrition parentérale après plusieurs années de vie, et la cholestase chez les 2 autres. Des variants homozygotes dans la famille consanguine, et hétérozygotes composites dans les autres familles, de type tronquants ou faux sens, du gène Unc-45 Myosin Chaperone A (*UNC45A)* ont été mis en évidence dans les 3 familles, et ont permis de rapprocher ces patients dont la présentation clinique était initialement très différente. UNC45A appartient à la famille de protéines UCS et n'a pas été précédemment rattaché à une pathologie humaine. Des travaux réalisés sur l'orthologue C. elegans UNC-45 avait montré l'implication de ce gène dans les troubles de la motilité. Des études fonctionnelles *in vitro* et *in vivo*, et à l'aide d'un modèle zebrafish, a permis de confirmer l'implication de UNC45A, en particulier dans les manifestations digestives. Ces résultats montrent l'apport du séquençage nouvelle génération dans l'identification de nouveaux gènes responsables de présentations cliniques hétérogènes, et l'importance du partage de données et des projets collaboratifs pour aboutir à des conclusions.

CO018 : Haploinsuffisance de BMP2 : Mécanisme responsable d'un nouveau syndrome malformatif associant une dysmorphie, une fente palatine et des anomalies squelettique et cardiaques.

Auteurs :

Gwenaël Le Guyader (1), Tiong Yang Tan (2), Fanny Pelluard (3), Brigitte Gilbert-Dussardier (1), Fréderic Bilan (4)

1. Service de Génétique clinique, CHU de Poitiers, Poitiers, France
2. Victorian Clinical Genetics Services, University of Melbourne, Melbourne, Australie
3. Service de foetopathologie, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France
4. Laboratoire de Génétique, CHU de Poitiers, Poitiers, France

Mots clefs : Dysmorphie, Os, BMP, Cardiopathie congénitale, Squelette

Résumé :

La protéine morphogénétique osseuse 2 (BMP2) située sur le chromosome 20p12 appartient à une superfamille de gènes codant pour des peptides de signalisation TGF-beta impliqués dans le développement des os et du cartilage. Les délétions hétérozygotes du chromosome 20p12 ont été associées de manière variable à des fentes palatines, une petite taille et à un retard de développement. Nous rapportons ici un phénotype cranio-squelettique particulier dû à des mutations tronquantes, à l'état hétérozygote, chez 12 individus de 8 familles non apparentées qui partagent comme caractéristiques : une petite taille, une dysmorphie reconnaissable, des anomalies squelettiques et une maladie cardiaque congénitale. Dans toutes les familles décrites, dont un cas de mosaïque paternelle chez deux sœurs atteintes qui ont hérité d'une mutation d'épissage dans le gène *BMP2,* l'apparition de mutations survenues *de novo* et d'une hérédité autosomique dominante nous permettent d'impliquer l'haploinsuffisance de *BMP2* comme le mécanisme responsable du phénotype rapportée dans la microdélétion 20p12. De plus, nous reproduisons le phénotype observé chez nos patients comme la petite taille et les anomalies squelettiques, grâce à un modèle de souris knock-out hétérozygote Bmp2, confirmant que l'haploinsuffisance de BMP2 est le principal déterminant du phénotype des individus porteurs de mutations tronquantes et de microdélétions comprenant ce gène. Ces résultats démontrent le rôle important joué par la protéine *BMP2* dans le développement cranio-facial, squelettique et cardiaque humain, associant un phénotype cohérent caractérisé par une petite taille, une fente palatine, des anomalies squelettiques et cardiaques, sans déficit neurologique.

CO019 : Recherche de nouveaux biomarqueurs indicateurs de la présence d'une altération constitutionnelle des gènes suppresseurs de tumeurs TP53 et BRCA par approche multi-omique

Auteurs :

Sabine Raad (1), Abdellah Tebani (2), Raphaël Lanos (1), Edwige Kasper (1), Céline Derambure (1), Sophie Coutant (1), Carlos Afonso (3), Gaëlle Bougeard (1), Soumeya Bekri (2), Thierry Frébourg (4), Isabelle Tournier (5)

1. Inserm U1245, UNIROUEN, Normandie Univ, et Département de Génétique, CHU de Rouen, Centre Normand de Génomique et de Médecine Personnalisée, Rouen, France
2. Inserm U1245, UNIROUEN, Normandie Univ, et Département de Biochimie Métabolique, CHU de Rouen, Centre Normand de Génomique et de Médecine Personnalisée, Rouen, France
3. UMR 6014 Laboratoire de Chimie Organique et Analytique COBRA, IRCOF, UNIROUEN, Normandie Univ, Rouen, France
4. 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
5. Inserm U1245, UNIROUEN, Normandie Univ, et Département de Génétique, CHU de Rouen , Centre Normand de Génomique et de Médecine Personnalisée, Rouen, France

Mots clefs : Prédispositions génétiques au cancer, Approche multi-omique, Métabolomique, RNA-seq, Tests fonctionnels, TP53, BRCA, Syndrome de Li-Fraumeni

Résumé :

L'identification des mutations constitutionnelles à l'origine d'une prédisposition génétique au cancer est essentielle à la prise en charge médicale des patients et de leurs familles. Depuis l'implémentation des technologies de séquençage à haut-débit dans les laboratoires diagnostiques, le principal défi n'est plus la détection des variations génétiques mais leur interprétation et leur classification. La question de l'interprétation de la variation est particulièrement cruciale lorsqu'elle conditionne la stratégie thérapeutique. Il est essentiel de disposer de tests simples adaptables en routine diagnostique pour faciliter l'interprétation des variations génétiques. Le but de notre projet est, dans ce contexte, l'identification par approche multi-omique, combinant l'analyse à haut-débit du transcriptome et l'analyse du métabolome, de nouveaux biomarqueurs capables de discriminer des cellules sans mutation de cellules avec mutation délétère. Nous avons appliqué cette approche aux variations de *TP53* à l'origine du syndrome de Li-Fraumeni ainsi qu'aux variations détectées dans les gènes *BRCA* impliqués dans la prédisposition génétique aux cancers du sein et de l'ovaire. Si l'apparition de tumeurs chez ces patients nécessite le plus souvent un deuxième événement somatique, l'impact biologique d'une mutation constitutionnelle hétérozygote est probablement suffisant pour entrainer un endophénotype détectable à l'aide d'outils moléculaires spécifiques. En exposant les cellules à des drogues génotoxiques, nous avons exacerbé les différences existant entre les lymphocytes de sujets témoins et les lymphocytes de patients porteurs d'une mutation délétère hétérozygote pour pouvoir mettre en évidence une réponse différentielle aux lésions de l'ADN. Nous avons réalisé des expériences de RNA-seq global permettant d'évaluer les différences d'expression des transcrits codants, mais également des ARN non codants dont l'implication dans la réponse aux lésions de l'ADN est de plus en plus évidente. Cette analyse a révélé une liste de gènes différentiellement exprimés entre les cellules sauvages et mutées. Ces transcrits constituent de nouveaux biomarqueurs qui pourront être inclus dans des tests fonctionnels simples. En parallèle de ces analyses, nous effectuons des analyses de métabolomique non ciblées. Cette approche omique émergente en génétique humaine permet d'évaluer l'impact des influences génétiques et environnementales sur les cellules. La stratégie analytique choisie repose sur la spectrométrie de masse à haute résolution, la chromatographie liquide et la mobilité ionique (UHPLC-IM-MS). Nous procéderons ensuite à l'intégration des données issues de ces deux technologies omiques afin de cibler plus précisément les voies et les acteurs biologiques impliqués dans ces réponses cellulaires. L'identification de biomarqueurs identifiés par cette approche multi-omique devrait permettre de développer des tests simples ciblés adaptés à la routine diagnostique.

CO020 : Les gènes de la réparation de l'ADN dans la prédisposition aux cancers du sein : quelles implications pour les tests génétiques ?

Auteurs :

Elodie Girard (1), Séverine Eon-Marchais (1), Robert Olaso (2), Francesca Damiola (3), Marie-Gabrielle Dondon (1), Laure Barjhoux (3), Didier Goidin (4), Vincent Meyer (2), Dorothée Le Gal (1), Juana Beauvallet (1), Noura Mebirouk (1), Morgane Marcou (5), Eve Cavaciuti (1), Anne-Laure Renault (1), Juliette Coignard (1), Odile Cohen-Haguenauer (6), Dominique Leroux (7), Clotilde Penet (8), Sandra Fert-Ferrer (9), Chrystelle Colas (10), Thierry Frebourg (11), François Eisinger (12), Annie Chevrier (11), Claude Adenis (13), Anne Fajac (14), Laurence Gladieff (15), Julie Tinat (11), Anne Floquet (16), Jean Chiesa (17), Sophie Giraud (18), Isabelle Mortemousque (19), Florent Soubrier (20), Séverine Audebert-Bellanger (21), Jean-Marc Limacher (22), Christine Lasset (23), Sophie Lejeune-Dumoulin (24), Hélène Dreyfus (25), Yves-Jean Bignon (26), Michel Longy (16), Pascal Pujol (27), Laurence Venat-Bouvet (28), Valérie Bonadona (23), Pascaline Berthet (29), Elisabeth Luporsi (30), Christine M Maugard (31), Catherine Noguès (32), Capucine Delnatte (33), Jean-Pierre Fricker (34), Paul Gesta (35), Laurence Faivre (36), Alain Lortholary (37), Bruno Buecher (38), Olivier Caron (39), Marion Gauthier-Villars (38), Isabelle Coupier (40), Nicolas Servant (1), Anne Boland (2), Sylvie Mazoyer (41), Jean-François Deleuze (2), Dominique Stoppa-Lyonnet (42), Nadine Andrieu (1), Fabienne Lesueur (1)

1. Inserm U900, Institut Curie, Mines ParisTech, PSL University, Paris, France
2. Centre National de Recherche en Génomique Humaine, Département de l'Institut de Biologie François Jacob, CEA, Evry, France
3. Biopathologie, Centre Léon Bérard, Lyon, France
4. Life Sciences and Diagnostics Group, Agilent Technologies France, Les Ulis, France
5. Inserm U900, Département de l'Institut de Biologie François Jacob, CEA, Paris, France
6. Service de Génétique, Hôpital Saint-Louis, Paris, France
7. Département de Génétique, CHU de Grenoble, Hôpital Couple-Enfant, Grenoble, France
8. Oncogénétique, Institut Jean-Godinot & ICC Courlancy, Reims, France
9. Service de Génétique, Centre Hospitalier de Chambéry, Chambéry, France
10. Département de Génétique, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France
11. Département de Génétique, Hôpital Universitaire de Rouen, Rouen, France
12. Département d'Anticipation et de Suivi des Cancers, IPC, Inserm, UMR912, Marseille, France
13. Service de Génétique, Centre Oscar-Lambret, Lille, France
14. Service d'Oncogénétique, Hôpital Tenon, Paris, France
15. Service d'Oncologie Médicale, Institut Claudius Regaud, IUCT-Oncopole, Toulouse, France
16. Service de Génétique, Institut Bergonié, Bordeaux, France
17. Service de Génétique, CHRU Hôpital Caremeau, Nîmes, France
18. Service de Génétique, Hospices Civils de Lyon, Groupement Hospitalier EST, Bron, France
19. Service de Génétique, Hôpital Bretonneau, Tours, France
20. Service de Génétique, Hôpital Tenon, Paris, France
21. Département de Génétique Médicale en Pédiatrie, CHU Brest, Hôpital Morvan, Brest, France
22. Service d'Onco-hématologie, Hôpital Pasteur, Colmar, France
23. Unité de Prévention et Epidémiologie Génétique, Centre Léon Bérard, Lyon, France
24. Service de Génétique Clinique, Hôpital Jeanne de Flandre, Lille, France
25. Département de Génétique, CHU de Grenoble, Grenoble, France
26. Service de Génétique, Centre Jean-Perrin, Clermont-Ferrand, France
27. Service de Génétique Médicale et Oncogénétique, Hôpital Arnaud de Villeneuve, CHU Montpellier, Montpellier, France
28. Service d'Oncologie Médicale, Hôpital Universitaire Dupuytren, Limoges, France
29. Unité de Pathologie Gynécologique, Centre François Baclesse, Caen, France
30. Unité d'Oncogénétique, Centre Georges François Leclerc, Vandoeuvre-lès-Nancy, France
31. Oncogénétique UF1422/UF6948, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
32. UMR912, Département D'Anticipation et de Suivi des Cancers, Institut Paoli Calmettes, Marseille, France
33. Unité d'Oncogénétique, ICL Alexis Vautrin, Nantes Saint Herblain, France
34. Unité d'Oncologie, Centre Paul Strauss, Strasbourg, France
35. Service d'Oncogénétique, CH Georges Renon, Niort, France
36. Oncogénétique, Hôpital d'enfants, Institut GIMI, CHU de Dijon, Dijon, France
37. Service d'Oncologie Médicale, Centre Catherine de Sienne, Nantes, France
38. Service de Génétique, Institut Curie, Paris, France
39. Service d'Oncogénétique Clinique, Gustave Roussy, Villejuif, France
40. Service de Génétique Médicale et Oncogénétique, Hôpital arnaud de Villeneuve, CHU Montpellier, Montpellier, France
41. INSERM U1028, CNRS UMR5292, Centre de Recherche en Neurosciences de Lyon, Lyon, France
42. Service de Génétique, Inserm U830, Université Paris Descartes, Institut Curie, Paris, France

Mots clefs : cancer du sein, prédisposition génétique, étude cas-témoin, séquençage haut débit, gènes de la réparation de l'ADN

Résumé :

Des altérations constitutionnelles des gènes *BRCA1*, *BRCA2* et *PALB2* expliquent environ 10% des familles suspectées de prédisposition héréditaire au cancer du sein (CS) ou de l'ovaire. L'introduction du séquençage haut débit dans les laboratoires diagnostics permet le séquençage simultané d'autres gènes impliqués dans la prédisposition au cancer. Les risques de cancer associés aux altérations de ces gènes sont mal estimés et leur utilité en médecine préventive reste à démontrer. Nous avons séquencé 113 gènes impliqués dans différents mécanismes de la réparation de l'ADN chez 1207 cas sans mutation de *BRCA1* et *BRCA2* et ayant une sœur atteinte de CS et chez 1199 témoins participant à l'étude GENESIS. Le panel de gènes comprend 36 gènes connus et 77 gènes candidats identifiés dans l'analyse de l'exome de 100 femmes à très haut risque de CS. Nous avons développé un pipeline bioinformatique pour automatiser l'analyse des données de séquençage, l'annotation et le tri des variants et formater les données pour l'analyse cas-témoin. Au total, 3930 variants distincts altérant la séquence protéique et présents dans moins de 0,5% des témoins ont été identifiés, dont 264 variants tronquants (155 porteurs chez les cas, 132 porteurs chez les témoins) et 1994 variants faux-sens distincts prédits comme délétères avec l'outil CADD (1213 porteurs chez les cas, 1103 porteurs chez les témoins). Lorsqu'on ne considère que les variants tronquants, *ATM* (OR=17,1 ; IC95% 2,3-129), *CHEK2* (OR=5,9 ; IC95% 2,0-17) et *PALB2* (OR=3,8 IC95% 1,0-14) sont significativement associés au risque de CS. L'analyse des variants faux-sens prédits comme délétères montre qu'*ATM* (OR=1,6 ; IC95% 1,0-2,4), *CHEK2* (OR=2,5 ; IC95% 1,4-4,1), *PALB2* (OR=3,5 ; IC95% 1,4-8,6) et *MAST1* (OR=2,5 ; IC95% 1,0-6,0) sont associés à une augmentation du risque de CS et que les variants de *POLH* (OR=0,3 ; IC95% 0,1-0,9), *RTEL1* (OR=0,4 ; IC95% 0,2-0,9) et *FANCI* (OR=0,4 ; IC95% 0,2-1,0) sont associés à une diminution de ce risque. Seuls 78 des 2258 variants rares (tronquants ou faux-sens) identifiés dans les 113 gènes sont rapportés dans ClinVar comme étant « pathogènes » ou « probablement pathogènes ». Ces variants ne sont présents que dans 30 des 113 gènes retenus et leur analyse donne des résultats similaires pour *ATM* et *CHEK2*. Des variants de ClinVar sont identifiés dans les gènes *PALB2* (4 cas, 1 témoin), *TP53* (4 cas), *CDH1* (1 cas), *RAD51C* (1 cas), *RAD51D* (2 témoins), *MLH1* (1 témoin), *MSH2* (3 témoins) et *PMS2* (3 cas, 3 témoins) pour lesquels des recommandations spécifiques de prise en charge ont été définies ; ces derniers gènes sont d'ailleurs souvent inclus dans les tests multi-gènes commerciaux. Ainsi, notre stratégie d'analyse a permis d'identifier de nouveaux gènes associés au CS (*MAST1*, *POLH*, *RTEL1* et *FANCI*) et montre l'intérêt de prendre en compte dans l'analyse tous les types de variants. D'autres gènes identifiés dans l'analyse de l'exome et non impliqués dans la réparation de l'ADN sont à l'étude.

Abstract_GENESIS_NGS_final.docx

CO021 : Estimation des risques de cancer à partir de l'analyse des variants pathogènes d'un panel de 34 gènes identifiés chez 5131 cas index présentant une prédisposition au cancer du sein et de l'ovaire.

Auteurs :

Laurent Castéra (1), Valentin Harter (2), Etienne Muller (1), Sophie Krieger (3), Nicolas Goardon (1), Agathe Ricou (1), Antoine Rousselin (1), Germain Paimparay (1), Angélina Legros (1), Olivia Bruet (1), Céline Quesnelle (1), Florian Domin (1), Chankannira San (1), Baptiste Brault (1), Robin Fouillet (1), Caroline Abadie (4), Pascaline Berthet (5), Odile Béra (6), Project French Exome (7), Thierry Frébourg (8), Dominique Vaur (1)

1. Laboratoire de Biologie et de Génétique du Cancer, INSERM U1245, Centre Normand de Génomique Médicale et Médecine Personnalisée, CLCC Centre François Baclesse, Caen, France
2. Centre de Traitement des données du cancéropole nord-ouest (CTD-CNO), CLRCC François Baclesse, Caen, France
3. Laboratoire de Biologie et de Génétique du Cancer, INSERM U1245, Centre Normand de Génomique Médicale et Médecine Personnalisée, CLCC Centre François Baclesse, Université de Caen Normandie, Caen, France
4. Département de Génétique, CLCC Eugène Marquis, Rennes, France
5. Service d'oncogénétique, CLCC Centre François Baclesse, Caen, France
6. Département de Génétique, CHU, Fort de France, Martinique
7. French Exome Project, consortium, France, France
8. Unité de Génétique moléculaire, INSERM U1245, Centre Normand de Génomique Médicale et Médecine Personnalisée, CHU, Rouen, France

Mots clefs : estimation des riques, cancer, variant rare, prédisposition

Résumé :

Le diagnostic des prédispositions au cancer du sein et de l'ovaire est réalisé aujourd'hui par séquençage à haut débit (NGS). L'exploration de panels de gènes en clinique impose une évaluation et une connaissance fine des risques associés aux variants génétiques de chaque gène. Dans l'objectif d'estimer ces niveaux de risques nous avons analysé une grande série de patients séquencés dans le cadre du diagnostic, en nous basant sur les données des consortium ExAC et 1000 Genomes. Les données individuelles du French Exome Project (FREX) ont également été utilisées en tant que contrôles. Le séquençage de 5131 cas index a été réalisé après enrichissement par capture de 34 gènes et celui de 571 individus « FREX » après enrichissement de l'exome. Les analyses ont reposé sur l'utilisation des logiciels CASAVA et BWA suivi d'HaplotypeCaller (GATK). Après contrôle de la qualité de séquençage et restriction des données aux régions génomiques comparables, les biais de stratification ont été contrôlés par analyse de correspondances multiples en utilisant les données 1000Genomes et FREX. Les variants pathogènes et probablement pathogènes ont été sélectionnés selon des critères dérivés des recommandations de l'ACMG. La probabilité qu'un individu ExAC soit lui-même porteur d'un variant pathogène a été simulée et comparée à la fréquence estimée dans la population prédisposée au cancer du sein et de l'ovaire afin de tester des effets d'association. Des burden tests ont été réalisés en utilisant les individus FREX comme témoins. Les odds-ratio associés aux variants pathogènes de *BRCA1, BRCA2, PALB2, RAD51C, RAD51D, ATM, BRIP1, CHEK2* et *MSH6* ont été estimés respectivement à 13.22[10.01-17.22], 8.61[6.78-10.82], 8.22[4.91-13.05], 4.54[2.55-7.48], 5.23[1.46-13.17], 3.20[2.14-4.53], 2.49[1.42-3.97], 1.67[1.18-2.27] et 2.50[1.12-4.67]. Les variants de *RAD51C, RAD51D*, et *BRIP1* se sont révélés associés à une histoire familiale de cancer de l'ovaire (OR = 11.36[5.78-19.59], 12.44[2.94-33.30] et 3.82[1.66-7.11]). Nous avons détecté une association entre les variants *PALB2* et les cancers du sein bilatéraux (OR=16.17[5.48-34.10]) et entre les variants de *BARD1* et les cancers « triples négatifs» (OR=11.27[3.37-25.01]). Les burden tests réalisés avec la population de patients et la population FREX confirment l'association des variants pathogènes de *BRCA1, BRCA2, PALB2* et *RAD51C* avec le cancer du sein et de l'ovaire héréditaire. Notre étude valide l'intégration de *PALB2, RAD51C, RAD51D* au diagnostic des prédispositions héréditaires de cancer du sein et/ou de l'ovaire et justifie une prise en charge médicale appropriée chez les porteuses de variants pathogènes. En revanche, pour les autres gènes, nos données suggèrent leur contribution dans un modèle oligogénique, ce qui doit inciter à la prudence dans leur utilisation diagnostique.

castera Assises 2018 HBOC Laurent TFv to submit last.docx

CO022 : Les mutations constitutionnelles du gène codant pour le transporteur mitochondrial du 2-oxoglutarate/malate (SLC25A11) prédisposent aux paragangliomes métastatiques.

Auteurs :

Alexandre Buffet (1, 2), Aurélie Morin (1), Luis Jaime Castro-Vega (1), Florence Habarou (3), Charlotte Lussey (1), Eric Letouzé (4), Hervé Lefebvre (5), Isabelle Guilhem (6), Magalie Haissaguerre (7), Isabelle Raingeard (8), Mathilde Padilla-Girola (1), Thi Tran (1), Jerome Bertherat (9), Laurence Amar (10, 1), Chris Ottolenghi (3), Nelly Burnichon (11), Anne-Paule Gimenez-Roqueplo (11, 1), Judith Favier (1)

1. INSERM, UMR970, Paris-Centre de Recherche Cardiovasculaire, Paris, France
2. Service d'Endocrinologie, Hôpital Larrey, CHU de Toulouse, Toulouse, Toulouse, France
3. Service de Biochimie Métabolique, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Hôpital Necker-Enfants Malades , Paris, France
4. Programme Cartes d'Identité des Tumeurs, Ligue Nationale Contre Le Cancer, Paris, France
5. Service d'Endocrinologie, Diabète et Maladies Métaboliques, INSERM U982, Centre Hospitalier Universitaire de Rouen, Rouen, France
6. Service d'Endocrinologie-Diabétologie-Nutrition, CHU de Rennes, Hôpital Sud, Rennes, France
7. Service d'Endocrinologie, Hôpital Haut-Lévêque, CHU de Bordeaux, Pessac, France
8. Service d'Endocrinologie, CHU Montpellier, Hôpital Lapeyronie, Montpellier, France
9. Service d'Endocrinologie , Hôpital Cochin, Assistance Publique, Hôpitaux de Paris, Paris, France
10. Service d'hypertension artérielle, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris, France
11. Service de Génétique, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris, France

Mots clefs : paragangliome malin, SLC25A11, transporteur mitochondrial, 2-oxoglutarate

Résumé :

Les paragangliomes (PGL) et phéochromocytomes (PH) sont des tumeurs neuroendocrines rares, génétiquement déterminées dans 40 % des cas. Les études de génomique intégratives ont démontré que les mutations constitutionnelles de deux gènes codant pour des protéines mitochondriales, *SDHB* et à un moindre dégré *FH* sont les causes majeures de paragangliomes métastatiques. Toutefois il reste de nombreux patients avec des formes malignes de PGL sans explication à ce jour.
Nous avons réalisé un séquençage d'exome sur l'ADN constitutionnel et tumoral d'un patient dont le PGL se classait avec les tumeurs *SDHx* dans les différentes omics, alors qu'aucune mutation constitutionnelle ou tumorale dans un des gènes *SDHx* ou *FH* n'avait été identifiée. Nous avons mis en évidence une mutation constitutionnelle dans le gène *SLC25A11*, codant pour le transporteur mitochondrial du 2-oxoglutatarate-malate. Six patients porteurs d'une mutation de *SLC25A11,* ont été identifiés grâce au séquençage Sanger de l'ADN constitutionnel d'une cohorte de 639 patients avec PGL. Parmi ces 6 patients, 5 avaient un PGL métastatique. Toutes ces mutations été associées à une perte d'hétérozygotie tumorale ainsi qu'à une perte d'expression de la protéine codée par *SLC25A11* (nommée OGC) en immunohistochimie. Un phénotype pseudo-hypoxique et une hyperméthylation globale de l'ADN ont été observés dans les tumeurs *SLC25A11*-dependantes ainsi que dans des cellules murines chromaffines invalidées pour le gène *Slc25a11,* générées par la technologie CRISPR-Cas9.
Ces éléments permettent de conclure que *SLC25A11* est un nouveau gène suppresseur de tumeur, dont les mutations constitutionnelles prédisposent aux PGL métastatiques. Ces mutations peuvent être prédites ou validées par l'immunohistochimie anti-OGC. Les patients porteurs d'un PGL métastatique doivent bénéficier de l'analyse moléculaire de ce gène et un dépistage pré-symptomatique pourra être proposé aux apparentés, qui si ils sont porteurs pourront avoir un suivi adapté au risque métastatique. L'identification de ce gène étend le champ des dysfonctions mitochondriales dans la tumorigenèse et dans la cancérogénèse des PGL.

abuffetSLC25A11assises2018.docx

CO023 : Génétique du syndrome DICER1 : étude rétrospective de 204 analyses

Auteurs :

Lisa Golmard (1), Florian Verrier (1), Catherine Dubois d'Enghien (1), Caroline Abadie (2), Pascaline Berthet (3), Laurence Blanc (4), Valérie Bonadona (5), Laurence Brugières (6), Léa Guerrini (6), Virginie Bubien (7), Marie-Agnès Collonge-Rame (8), Isabelle Coupier (9), Olivier Ingster (10), Bertrand Isidor (11), Sophie Lejeune (12), Ludovic Mansuy (13), Dominique Martin-Coignard (14), Isabelle Mortemousque (15), Isabelle Oliver-Petit (16), Franck Bourdeaut (17), Daniel Orbach (17), Antoine de Pauw (1), Bruno Buecher (1), Dominique Stoppa-Lyonnet (1, 18), Marion Gauthier-Villars (1), Claude Houdayer (1, 18)

1. Service de Génétique, Institut Curie, Paris, France
2. Service de Génétique clinique, CHU de Rennes, Rennes, France
3. Service d'Oncologie génétique, Centre François Baclesse, Caen, France
4. Service de Pédiatrie, CHU de Poitiers, Poitiers, France
5. Unité clinique d'Oncologie génétique, Centre Léon Bérard, Lyon, France
6. Département de cancérologie de l'Enfant et l'Adolescent, Gustave Roussy Cancer Campus, Villejuif, France
7. Unité d'Oncogénétique, Institut Bergonié, Bordeaux, France
8. Service de Génétique biologique - Unité d'Oncogénétique, CHRU de Besançon, Besançon, France
9. Unité d'Oncogénétique, CHRU de Montpellier, Montpellier, France
10. Service de Génétique, CHU d'Angers, Angers, France
11. Unité de Génétique clinique, CHU de Nantes, Nantes, France
12. Service de Génétique clinique, CHRU de Lille, Lille, France
13. Service d'Oncogénétique, Centre Alexis Vautrin, Vandœuvre-lès-Nancy, France
14. Service de Génétique, CH Le Mans, Le Mans, France
15. Service de Génétique, CHRU de Tours, Tours, France
16. Unité d'endocrinologie, Hôpital des enfants, CHU de Toulouse, Toulouse, France
17. Centre oncologique SIREDO (Centre intégré de soins et de recherche en oncologie de l'enfant, adolescent et jeune adulte), Institut Curie, Paris, France
18. INSERM U830 et Université Paris Descartes, Institut Curie et Université Sorbonne Paris Cité, Paris, France

Mots clefs : syndrome DICER1, diagnostic génétique, pleuropneumoblastome, Sertoli Leydig, goitre multinodulaire, oncogénétique pédiatrique

Résumé :

Introduction. Le syndrome *DICER1*, de transmission autosomique dominante, est associé à un large spectre de tumeurs bénignes et malignes dont le pleuropneumoblastome (PPB), le néphrome kystique (NK), les tumeurs ovariennes de type Sertoli-Leydig (OSLCT) et le goitre multinodulaire (GMN) ou cancer de la thyroïde. Le diagnostic génétique consiste en l'identification d'un variant délétère inactivant le gène *DICER1* au niveau constitutionnel. Afin d'améliorer la connaissance des caractéristiques cliniques et génétiques de ce syndrome de découverte récente, nous avons réalisé une étude rétrospective d'analyses du gène *DICER1* chez des patients atteints de lésions évocatrices du syndrome *DICER1*.
Méthodes. Cette étude a porté sur une cohorte de 204 sujets : 101 cas index et 103 apparentés, de 2012 à 2016. Les consultations de génétique ont eu lieu dans différents centres de lutte contre le cancer et hôpitaux français. L'indication d'analyse a été retenue pour tout type de tumeur associé au syndrome *DICER1*. L'analyse du gène *DICER1* a été réalisée à l'Institut Curie, Paris, par séquençage Sanger ou haut débit.
Résultats. Des variants délétères inactivant le gène *DICER1* au niveau constitutionnel ont été identifiés chez 43 cas index (n=43/101) et 45 apparentés (n=45/103). La majorité des variants délétères a été identifiée chez des patients atteints de PPB (n=27/35), NK (n=7/12) et OSLCT (n=10/19). Ces variants délétères sont des mutations ponctuelles inactivatrices localisées dans la séquence codante ou les jonctions exon-intron du gène *DICER1*, excepté deux réarrangements de grande taille et une mutation intronique profonde. Sept variants délétères sont des mutations *de novo*, dont une à l'état mosaïque. Parmi les 45 apparentés porteurs du variant délétère *DICER1* identifié dans la famille, 15 sujets ont une lésion associée au spectre tumoral de *DICER1* : 11 GMN de la thyroïde, 2 PPB, 2 NK et 1 tumeur ovarienne de la granulosa juvénile, soit 16 lésions au total en raison du diagnostic de GMN de la thyroïde et NK chez un même sujet.
Conclusion. Cette étude d'une grande cohorte a permis de confirmer que 77% des PPB et 53% des OSLCT sont associés à des variants délétères du gène *DICER1* au niveau constitutionnel. La présence de variants uniquement au niveau tumoral pourrait expliquer certains cas sporadiques. Par ailleurs, la fréquence élevée de GMN de la thyroïde chez les apparentés porteurs d'un variant délétère du gène *DICER1* suggère de le retenir comme critère d'indication dans les présentations familiales. Des études supplémentaires sur différents types de tumeur sont nécessaires afin de préciser le spectre tumoral du syndrome *DICER1*.

CO024 : Diagnostic différentiel de la neurofibromatose de Type 2, la schwannomatose et la méningiomatose : apport du séquençage nouvelle génération

Auteurs :

Camille LOUVRIER (1), Eric PASMANT (2), Audrey BRIAND-SULEAU (3), Joëlle COHEN (1), Patrick NITSCHKE (4), Juliette NECTOUX (3), Lucie ORHANT (3), Cécile ZORDAN (5), Cyril GOIZET (5), Stéphane GOUTAGNY (6), Dominique LALLEMAND (7), Michel VIDAUD (2), Dominique VIDAUD (2), Michel KALAMARIDES (8), Béatrice PARFAIT (2)

1. , , Paris, France
2. Service de Génétique et Biologie Moléculaires, Hôpital Cochin - APHP, PARIS, France
3. Service de Génétique et Biologie Moléculaires, Hôpital Cochin, PARIS, France
4. BIP-D Plateforme de Bioinformatique Paris-Descartes, Université Paris Descartes, PARIS, France
5. Service de Génétique Médicale, Groupe Hospitalier Pellegrin, BORDEAUX, France
6. Service de Neurochirurgie, Hôpital Beaujon - APHP, CLICHY, France
7. EA7331 - Faculté Pharmacie de Paris, Université Paris Descartes, PARIS, France
8. Service de Neurochirurgie, Hôpital Pitié-Salpétrière - APHP, PARIS, France

Mots clefs : NF2 – SMARCB1 - LZTR1 – SMARCE1 - séquençage ciblé - NGS

Résumé :

La Neurofibromatose de type 2 (NF2) se caractérise par le développement de schwannomes vestibulaires bilatéraux mais également de schwannomes au niveau des autres nerfs crâniens ou périphériques, des méningiomes, des épendymomes ainsi que de lésions cutanées et ophtalmologiques. Cette maladie de transmission autosomique dominante est due à la perte de fonction du gène *NF2*. Plus de la moitié des patients présentent une forme sporadique de la maladie avec des mosaïques décrites dans environ 30% des cas. Il existe un recouvrement phénotypique entre la NF2, la schwannomatose (SWN) et la méningiomatose (MNG) et l'expressivité variable de ces syndromes de prédisposition héréditaire au développement de tumeurs rend le diagnostic clinique parfois difficile en particulier chez les patients jeunes. Le diagnostic moléculaire constitue donc un élément clé dans le diagnostic différentiel de ces syndromes.
Nous avons développé l'analyse simultanée par NGS des gènes *NF2, SMARCB1*, *LZTR1, SMARCE1 et SUFU* impliqués dans ces syndromes et présentons les résultats de leur étude dans l'ADN leucocytaire de 196 patients chez qui le diagnostic de NF2 (N=83), de SWN (N=40) et de MNG (N=12) a été posé ainsi que des patients dont le diagnostic n'était pas clairement établi (N=61). Lorsque cela était possible, l'ADN tumoral a été étudié en parallèle de l'ADN leucocytaire des patients. L'étude a également été réalisée rétrospectivement chez 47 patients atteints de SWN et 27 patients atteints de MNG chez qui aucune anomalie de la séquence codante des gènes *NF2* et *SMARCB1* n'avait été mise en évidence par séquençage Sanger.
Des altérations du gène *NF2* ont été identifiées dans le sang de 42/83 patients atteints de NF2 (50%). Pour 10/42 (24%) patients, la mutation est présente à l'état de mosaïque avec une fréquence allélique comprise entre 1,5 et 25%. L'étude de l'ADN tumoral nous a permis d'identifier des mosaïques non détectées dans le sang chez 4/83 patients et de montrer que l'inactivation complète de *NF2* est couplée à une haploinsuffisance de *LZTR1* et *SMARCB1* dans 2/3 des tumeurs. Une anomalie de *SMARCB1* et *LZTR1* a été identifiée respectivement chez 12,5% et 33% des patients atteints de SWN et 8% des patients atteints de MNG présentent une anomalie de *SMARCE1* uniquement Enfin, un variant potentiellement pathogène a été identifié chez 10/61 (16%) patients pour lesquels le diagnostic clinique n'était pas clairement établi.
Nos résultats montrent l'importance de l'analyse simultanée des gènes *NF2*, *SMARCB1*, *LZTR1*, et *SMARCE1* dans le diagnostic différentiel de la NF2, la SWN et la MNG nécessaire pour adapter la prise en charge et le conseil génétique des patients. Notre stratégie est adaptée à la détection des mosaïques, même présentes à une très faible fréquence allélique et nous soulignons l'utilité de l'étude des tumeurs pour identifier les mosaïques non détectables dans le sang.

CO025 : Inversion paracentrique parentale et double boucle d'inversion méiotique à l'origine de réarrangements chromosomiques atypiques : à propos de trois cas

Auteurs :

Paul Kuentz (1, 2), Boris Keren (3), Damien Sanlaville (4, 5), Alice Masurel (6), Anne-Laure Mosca (7, 2), Nathalie Marle (7, 2), Muriel Payet (7), Clémence Ragon (7), Marlène Pouleau (7), Christel Thauvin-Robinet (6, 2), Laurence Faivre (6, 2), Caroline Schluth-Bolard (4, 5), Patrick Callier (7, 2)

1. Génétique Biologique Histologie, PCBio, Centre Hospitalier Universitaire de Besançon, Besançon, France
2. UMR-Inserm 1231 GAD, Génétique des Anomalies du développement, Université de Bourgogne Franche-Comté, Dijon, France
3. Département de génétique, APHP, UPMC Inserm, UMR7225, ICM, GH Pitié-Salpêtrière, Paris, France
4. Service de Génétique, Laboratoire de Cytogénétique Constitutionnelle, Groupement Hospitalier Est, Hospices Civils de Lyon, Bron, France
5. Lyon Neuroscience Research Center, GENDEV Team, INSERM U1028; CNRS UMR5292; UCBL1, Bron, France
6. Centre de Génétique et Centre de référence « Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs », Hôpital d'Enfants, Centre Hospitalier Universitaire de Dijon, Dijon, France
7. Laboratoire de Génétique chromosomique et moléculaire, Plateau Technique de Biologie, Centre Hospitalier Universitaire de Dijon, Dijon, France

Mots clefs : Inversion paracentrique, inversion parentale, double boucle d'inversion, diagnostic prénatal

Résumé :

Nous rapportons trois patients présentant une déficience intellectuelle syndromique, pour lesquels l'analyse chromosomique sur puce à ADN a permis d'identifier des remaniements comparables, caractérisés par des duplications-déficiences proximales par rapport aux points de cassure d'une inversion paracentrique identifiée chez l'un des parents. L'étude des génotypes en SNP array a montré chez les trois patients que : (1) les duplications et délétions étaient survenues chez le parent porteur de l'inversion paracentrique ; (2) il y avait trois haplotypes différents dans les duplications, avec présence d'une copie issue de chaque chromosome homologue du parent porteur de l'inversion ; (3) il y avait une région avec un nombre de copies normal, comprise entre la duplication et la délétion, avec présence aux bornes de duplications segmentaires responsables d'inversions cryptiques. Nous avons ainsi émis l'hypothèse de la présence d'une deuxième inversion paracentrique chez le même parent, cryptique, soit sur le chromosome portant la grande inversion paracentrique, soit sur le chromosome homologue. Dans les deux cas, le mécanisme que nous proposons implique un crossing-over au niveau de la petite boucle d'inversion au sein d'une double boucle d'inversion. Les inversions paracentriques sont connues pour être à l'origine d'une aneusomie de recombinaison avec des duplications-déficiences distales par rapport aux points de cassures de l'inversion, avec formation de dérivés dicentrique et acentrique instables entraînant une faible viabilité embryonnaire. Ainsi, le risque de déséquilibre chromosomique chez les porteurs d'une inversion paracentrique est considéré comme étant le même que celui de la population générale ; et par conséquent il ne paraît pas nécessaire de proposer un diagnostic prénatal de manière systématique. Les observations que nous rapportons vont plutôt à l'encontre de ce dogme et pourraient être le point de départ de nouvelles recommandations pour le conseil génétique.

Inversion paracentrique_Kuentz.doc

Communication Communication Session Simultanée *Caroline SCHLUTH - BOLARD*

CO026 : La caractérisation des remaniements chromosomiques apparemment équilibrés par séquençage génome entier révèle la diversité de leurs origines et de leurs conséquences fonctionnelles : résultats du projet ANI.

Auteurs :

Caroline Schluth-Bolard (1), Flavie Diguet (1), Pierre-Antoine Rollat-Farnier (2, 3), Alexandra Afenjar (4), Florence Amblard (5), Jeanne Amiel (6), Joris Andrieux (7), Marc-Antoine Belaud-Rotureau (8), Brigitte Benzacken (9), Sophie Blesson (10), Marie-Noëlle Bonnet-Dupeyron (11), Patrick Callier (12), Yline Capri (13), Nicolas Chatron (1), Emilie Chopin (14), Patrick Collignon (15), Marie-Pierre Cordier (16), Bénédicte Demeer (17), Annabelle Chaussenot (18), Florence Demurger (19), Françoise Devillard (5), Martine Doco-Fenzy (20), Céline Dupont (13), Jean-Michel Dupont (21), Sophie Dupuis-Girod (22), Laurence Faivre (23), Brigitte Gilbert-Dussardier (24), Anne-Marie Guerrot (25), Marine Houlier (6), Bertrand Isidor (26), Eric Jeandidier (27), Sylvie Jaillard (8), Boris Keren (28), Valérie Kremer (29), Didier Lacombe (30), Cédric Le Caignec (31), Aziza Lebbar (21), Marine Lebrun (32), Gaétan Lesca (33), James Lespinasse (34), Michèle Mathieu-Dramard (35), Julie Masson (1), Alice Masurel-Paulet (36), Cyril Mignot (4), Chantal Missirian (37), Anne Moncla (38), Sébastien Moutton (30), Fanny Morice-Picard (30), Gwenaël Nadeau (39), Céline Pébrel-Richard (40), Sylvie Odent (19), Véronique Paquis (18), Laurent Pasquier (19), Nicole Philip (41), Morgane Plutino (18), Linda Pons (1), Marie-France Portnoï (4), Fabienne Prieur (32), Jacques Puechberty (42), Audrey Putoux (33), Marlène Rio (6), Caroline Roorykc-Thambo (43), Massimiliano Rossi (22), Isabelle Rouvet (44), Catherine Sarret (40), Véronique Satre (5), Jean-Pierre Siffroi (45), Anne-Claude Tabet (46), Marianne Till (47), Renaud Touraine (32), Annick Toutain (10), Stépahnie Valence (4), Michel Vekemans (48), Alain Verloes (13), Sandra Whalen (4), Patrick Edery (49), 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 ; GENDEV Team , Bron, France
2. Service de Génétique, Laboratoire de Cytogénétique Constitutionnelle, Centre de Biologie et de Pathologie Est, Hospices Civils de Lyon, Bron, France
3. Cellule bio-informatique de la plateforme NGS, Hospices Civils de Lyon, Bron, France
4. Département de Génétique Médicale, Hôpital d'Enfants Armand Trousseau, Paris, France
5. Laboratoire de Génétique Chromosomique, Hôpital Couple Enfant, CHU Grenoble, Grenoble, France
6. Service de Génétique Médicale, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
7. Institut de Génétique Médicale, Hôpital Jeanne de Flandre, CHRU Lille, Lille, France
8. Laboratoire de Cytogénétique et de Biologie Cellulaire, CHU Pontchaillou, Rennes, France
9. Laboratoire de Cytogénétique, Hôpital Jean Verdier, Bondy, France
10. Service de Génétique, CHRU Tours, Tours, France
11. Service de Cytogénétique, CH Valence, Valence, France
12. Laboratoire de Cytogénétique, CHU Dijon, Dijon, France
13. Département de Génétique, Hôpital Robert Debré, Paris, France
14. Centre de Biotechnologie Cellulaire, Hospices Civils de Lyon, Bron, France
15. Service de Génétique Médicale, CHI Toulon, Toulon, France
16. Service de Génétique, Unité de Génétique Clinique, Hospices Civils de Lyon, Bron, France
17. Centre d'activité de génétique clinique, Pôle pédiatrie, Hôpital Nord, CHU Amiens, Amiens, France
18. Service de Génétique Médicale, CHU Nice, Nice, France
19. Service de Génétique Clinique, CHU Rennes, Rennes, France
20. Service de Génétique, CHU Reims, Reims, France
21. Laboratoire de Cytogénétique Constitutionnelle, Hôpital Cochin, Paris, France
22. Service de Génétique, Hospices Civils de Lyon, Bron, France
23. Centre de référence anomalies du développement et syndromes malformatifs, CHU Dijon, Dijon, France
24. Génétique Médicale, CHU La Milétrie, Poitiers, France
25. Unité de Génétique Clinique, CHU Rouen, Rouen, France
26. Service de génétique médicale, Unité de Génétique Clinique, CHU Nantes, Nantes, France
27. Service de Génétique , Hôpital Emile Muller, Mulhouse, France
28. Département de Génétique, GH Pitié-Salpêtrière, Paris, France
29. Laboratoire de Cytogénétique, Hôpital de Hautepierre, CHU Strasbourg, Strasbourg, France
30. Service de Génétique Médicale, CHU Bordeaux, Bordeaux, France
31. Service de génétique médicale, Institut de biologie , CHU Nantes, Nantes, France
32. Service de Génétique Clinique, Chromosomique et Moléculaire, CHU Hôpital Nord, Saint-Etienne, France
33. Service de Génétique, Hospices Civils de Lyon, Centre de Recherche en Neurosciences de Lyon, INSERM U1028 ; CNRS UMR5292 ; UCBL1 ; GENDEV Team , Bron, France
34. Laboratoire de Génétique chromosomique, CH Général, Chambéry, Chambéry, France
35. Centre d'activité de génétique clinique Pôle pédiatrie, Hôpital Nord, CHU Amiens, Amiens, France
36. Centre de référence anomalies du développement et syndromes malformatifs, CHU de Dijon, Dijon, France
37. Laboratoire de Cytogénétique, Hôpital de la Timone, CHU de Marseille, Marseille, France

38. Laboratoire de Cytogénétique, Hôpital de la Timone, CHU de Marseille, Marseille, France
39. Laboratoire de Cytogénétique, CH Général, Chambéry, Chambéry, France
40. Service de Cytogénétique Médicale, CHU Estaing, Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, France
41. Département de Génétique Médicale, Unité de Génétique Clinique, AP-HM, Marseille, France
42. Service de génétique, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
43. Service de Génétique Médicale, CHU Bordeaux, Boredeaux, France
44. Centre de Biotechnologies Cellulaires, Hospices Civils de Lyon, Bron, France
45. Service de Génétique et Embryologie Médicales, Hôpital d'Enfants Armand Trousseau, Paris, France
46. Laboratoire de Cytogénétique, Hôpital Robert Debré, Paris, France
47. Service de Génétique, Laboratoire de Cytogénétique Constitutionnelle, Hospices Civils de Lyon, Bron, France
48. Service de Cytogénétique, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France
49. Service de Génétique, Unité de Génétique Clinique, Hospices Civils de Lyon, Centre de Recherche en Neurosciences de Lyon, INSERM U1028 ; CNRS UMR5292 ; UCBL1 ; GENDEV Team , Bron, France

Mots clefs : whole genome sequencing, remaniements de structure, chromosome, déficience intellectuelle, effet de position

Résumé :

Les remaniements chromosomiques apparemment équilibrés (RCAE) associés à un phénotype anormal sont rares mais posent un réel problème de conseil génétique. Le phénotype peut être secondaire à un déséquilibre génomique cryptique, détectable par analyse chromosomique sur puce à ADN (ACPA), mais aussi à une interruption de gène ou un effet de position. Récemment, le séquençage génome entier (*Whole Genome Sequencing*, WGS) s'est révélé être un outil efficace, permettant la caractérisation rapide des RCAE au niveau moléculaire.
Le projet ANI est une étude française collaborative qui a pour objectif de caractériser par WGS les RCAE chez des patients atteints de déficience intellectuelle et/ou de malformations congénitales.
Nous avons inclus 55 patients (41 translocations réciproques, 4 inversions, 2 insertions, 8 remaniements chromosomiques complexes, RCC). Aucun déséquilibre génomique pathogène n'a été détecté par ACPA. Les points de cassure ont été caractérisés par WGS paired-end (Illumina, 10-15X) et validés par séquençage Sanger. L'expression des gènes interrompus et des gènes adjacents aux points de cassure a été étudiée par RT-qPCR à partir d'ARN sanguins.
Le WGS a permis d'identifier les points de cassure parmi 49 des 55 patients étudiés (89%). Les remaniements ont révélé un degré de complexité supérieur à celui attendu puisque 209 points de cassure ont été identifiés en WGS contre 119 sur le caryotype. Six remaniements de type chromoanagenesis ont été identifiés. Quarante-six pour cent des points de cassure interrompent un gène. Un diagnostic a pu être fermement posé chez 18/49 patients (37%), soit par interruption de gène (13), soit par effet de position (5). L'étude des signatures moléculaires au point de cassure a montré que le mécanisme majoritaire de survenue des RCAE est la réparation par *non-homologous end-joining* (NHEJ) (59%). Enfin, les études d'expression ont mis en évidence l'impact fonctionnel des points de cassure sur les gènes interrompus, mais aussi certains gènes adjacents.
En conclusion, ce travail montre l'intérêt de l'étude des remaniements de structure chromosomiques en WGS dans le diagnostic des déficiences intellectuelles/malformations congénitales. Il suggère également l'importance de l'architecture génomique dans les pathologies du développement.

Abstract-ANI-final.docx

CO027 : Correction d'un remaniement chromosomique déséquilibré familial d'origine paternelle par isodisomie uniparentale segmentaire maternelle du bras long du chromosome 11

Auteurs :

Maud Blanluet (1), Sandra Chantot-Bastaraud (2), Gaël Nicolas (1), Alice Goldenberg (1), Boris Keren (3), Pascal Chambon (1), Didier Hannequin (4), Jean-Pierre Siffroi (2), Thierry Frebourg (1), Bertrand Macé (1), Géraldine Joly-Hélas (1)

1. Département de Génétique, CHU de Rouen et Inserm U1245, UNIROUEN, Normandie Univ, Centre Normand de Génomique et de Médecine Personnalisée, Rouen, France
2. Service de Génétique et Embryologie Médicales, Hôpital d'Enfants Armand-Trousseau, AP-HP, Paris, France
3. Centre de Génétique Moléculaire et Chromosomique, UF de Génomique du Développement, Groupe Hospitalier de la Pitié-Salpêtrière, AP-HP, Paris, France
4. Département de Neurologie, CHU de Rouen et Inserm U1245, UNIROUEN, Normandie Univ, Centre Normand de Génomique et de Médecine Personnalisée, Rouen, France

Mots clefs : Cytogénétique, Translocation, Mosaïque, Isodisomie Uniparentale

Résumé :

La translocation réciproque est le réarrangement chromosomique équilibré le plus fréquemment détecté chez l'Homme. La transmission de la translocation à l'état déséquilibré par malségrégation chromosomique est pré-zygotique et la translocation déséquilibrée est alors attendue à l'état homogène dans la descendance. Nous rapportons le cas d'un frère et d'une sœur, issus de parents non apparentés, porteurs d'un même remaniement chromosomique déséquilibré (chromosome 11 remanié par malségrégation d'une translocation paternelle t(2;11)(q35;q25)) et observé de façon inattendue en mosaïque chez chacun d'eux. Le patient, âgé de 53 ans, présente une déficience intellectuelle, une cyphoscoliose, une dysmorphie et une hypoacousie. Le caryotype et les analyses par FISH, réalisés sur sang périphérique, ont révélé une mosaïque constituée d'une population cellulaire majoritaire déséquilibrée à environ 85% avec chromosome 11 paternel remanié et d'une population minoritaire normale. Une analyse de l'ADN lymphocytaire en SNP-array (HumanOmniExpress24, 715K, Illumina®) a confirmé l'existence d'une trisomie partielle 2q de 26,4 Mb associée à une monosomie partielle 11q de petite taille (1,16 Mb) en forte mosaïque. Le profil d'hybridation du chromosome 11 était en faveur d'une isodisomie segmentaire en mosaïque faible à environ 10% intéressant les ¾ du bras long du chromosome 11 sur 55 Mb. L'analyse en SNP-array de l'ADN maternel confirme qu'il s'agit d'une isodisomie uniparentale maternelle. L'analyse cytogénétique du sang périphérique de la sœur de ce patient, âgée de 56 ans et dont le phénotype est similaire, révèle, de façon inattendue, que celle-ci est porteuse du même déséquilibre en mosaïque que son frère par malségrégation de la translocation paternelle. L'analyse en SNP-array montre qu'une isodisomie uniparentale maternelle segmentaire de taille similaire à celle présentée par le frère est également à l'origine de la correction du déséquilibre dans environ 10% des cellules examinées. La survenue de deux événements, méiotique puis mitotique, pourrait expliquer la formation d'un tel déséquilibre en mosaïque avec malségrégation de la translocation paternelle dans un premier temps puis recombinaison mitotique post-zygotique dans un second temps, avec avantage sélectif de la lignée cellulaire porteuse de la disomie uniparentale maternelle segmentaire. La répétition du mécanisme de correction de ce déséquilibre chromosomique dans cette fratrie et les données de la bibliographie suggèrent une forte pression de sélection à l'encontre des cellules porteuses d'une monosomie 11q partielle. Les mosaïques de réarrangements de structure déséquilibrés sont peu décrites et différentes hypothèses ont été formulées afin d'expliquer leur mode de survenue. Nous décrivons ici un mécanisme rare de correction de déséquilibre chromosomique familial en mosaïque par disomie uniparentale segmentaire mis en évidence en SNP-array.

Abstract Assises 2018 - Translocation déséquilibrée en mosaïque.docx

CO028 : Microdélétion 1p36 évolution du diagnostic à propos d'une cohorte de 69 patients diagnostiqués en France.

Auteurs :

clémence Jacquin (1), margot Descharmes (1), Patrick Callier (2), Damien Sanlaville (3), Chantal Missirian (4), Paul Kuentz (5), Pauline Jaeger (6), Abdelkader Heddar (7), cedric Lecaignec (8), Emilie Landais (1), Dominique Martin (9), Céline Richard (10), anne-claude Tabet (11), Sylvia Redon (12), Nicolas Gruchy (13), Céline Poirsier (1), serge Romana (14), françois Vialard (15), martine Doco-Fenzy (16)

1. Génétique, CHU Reims, Reims, France
2. Génétique, CHU Dijon, Dijon, France
3. cytogénétique, CHU centre biologie et pathologie Est, Lyon, France
4. génétique médicale, Hopital de la Timone, Marseilles, France
5. Génétique, CHU Besançon, besançon, France
6. Génétique, CHU Lyon, Lyon, France
7. Génétique, CHU Cochin, Paris, France
8. Génétique, CHU Nantes, nantes, France
9. Génétique, CHU lemans, Lemans, France
10. Génétique, CHU Clermont-Ferrand, Clermont Ferrand, France
11. Génétique, CHU Robert Debré, Paris, France
12. Génétique, CHU BREST, Brest, France
13. Génétique, CHU Caen, Caen, France
14. Génétique, CHU Necker, Paris, France
15. Génétique, CHU Versailles, Versailles, France
16. génétique, CHU Reims, Reims, France

Mots clefs : délétion 1p36, cardiopathie, épilepsie, ACPA

Résumé :

Le but de notre étude était de faire le point sur la prévalence de la délétion 1p36 en comparaison avec le même travail déjà réalisé pour la délétion 22q11 avec 700 patients. La délétion 1p36 a une incidence décrite de 1/5,000 à 1/10,000 naissances vivantes. La délétion 1p36 est aussi une affection fréquente au sein des microdélétions et potentiellement la plus fréquente après la délétion 22q11 tout âge confondu.
Suite à une enquête nationale menée au sein de l'ACLF auprès de 15 centres, nous rapportons une cohorte de 69 patients nés vivants et porteurs d'une microdélétion 1p36. Le diagnostic a été porté entre 2004 et 2017. Au moins 30 patients sont des filles et 20 sont des garçons. L'âge des patients au diagnostic est de 2 jours à 31 ans. Le diagnostic a été possible dans les premières années par la technique de FISH ciblée ou sur la MLPA puis grâce à l'ACPA en priorité. Il s'agit d'une délétion interstitielle dans la majorité des cas, d'un dérivé d'une translocation dans un cas et d'une délétion avec duplication dans un cas avec un cas de mosaïque. La taille de la délétion a pu être évaluée dans la plupart des cas et allait de 4100pb à 11,47Mb. Deux groupes se sont révélés avec une délétion distale ou une délétion plus proximale. Pour les apparentés testés plus de 28 cas sont survenu de novo. Les patients présentaient des signes cliniques cohérents avec ceux déjà décrits dans la littérature. Ils présentaient différents symptômes avec par ordre de croissance : une hypotonie et/ou un retard des acquisitions et/ou une déficience intellectuelle (51/66 réponses), un RCIU et/ou un retard croissance (32/32 réponses), une dysmorphie faciale (53/56 réponses), des malformations cardiaques ou des gros vaisseaux (> 33/53 réponses), une épilepsie (29/36 réponses), des anomalies cérébrales (30/43 réponses), des troubles du comportement (15/16 réponses). Des enfants étaient trop jeunes pour avoir développé certains signes.
Cette étude préliminaire nous permet d'approcher le nombre relatif d'enfants dépistés avec une délétion 1p36 dans nos laboratoires. Cette étude n'est pas exhaustive et demande à être complétée mais elle soulève la nécessité de créer des registres permettant de mieux connaitre la prévalence de ces microdélétions pour une meilleure prise en charge. Ce type d'étude devrait être menée sur d'autres CNV qui sont peut-être plus fréquents à la lueur des résultats de l'ACPA.

CO029 : Y-a-t-il un intérêt à rechercher une disomie uniparentale des chromosomes 14 et/ou 15 dans le cadre d'une translocation Robertsonienne parentale ? Etude rétrospective sur 10 ans des centres Français.

Auteurs :

Kamran Moradkhani (1), Laurence Cuisset (2), Pierre Boisseau (3), Marine LEBRUN (4), Houda Hamdi-Rozé (5), Marie-Laure Maurin (6), Nicolas Gruchy (7), Perrine Malzac (8), Marie-Christine Manca-Pellissier (9), Frédéric Bilan (10), Marie-Pierre Audrezet (11), Anne-Laure Fauret (12), Chantal Missirian (13), Gregory Egea (14), Agnès Guichet (15), Marianne Till (16), Caroline Janel (17), Isabelle Creveaux (17), Laetitia Hesters (18), Séverine Drunat (12), Sophie Rondeau (19), Renaud Touraine (20), Claire Bénéteau (1), Valérie Malan (21), Sébastien Schmitt (22), Sandra Chantot-Bastaraud (23), Nicole Joyé (24), Olivier Pichon (22), Jean-Pierre Siffroi (25), Jean-Paul Bnonnefont (19), Jean-Michel Dupont (26), Philippe Jonveaux (27), Martine Doco-Fenzy (28), Damien Sanlaville (29), Cédric Le Caignec (1)

1. Service de Génétique Médicale, Laboraoire de Cytogénétique et DPI, CHU de Nantes, Nantes, France
2. Service de génétique et biologie moléculaires, CHU Paris Centre - Hôpital Cochin, Paris, France
3. Génétique médicale, CHU de Nantes, Nantes, France
4. Service de génétique clinique chromosomique et moléculaire , CHU de Saint-Etienne - Hôpital Nord , Saint Etienne, France
5. Laboratoire de génétique moléculaire et génomique médicale , CHU de Rennes - Hôpital Pontchaillou, Rennes, France
6. Service d'histologie, embryologie et cytogénétique, CHU Paris - Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
7. Service de génétique, CHU de Caen - Hôpital Clémenceau , Caen, France
8. Département de génétique médicale , CHU de Marseille - Hôpital de la Timone , Marseille, France
9. Centre de diagnostic prénatal, CHU de Marseille - Hôpital de la Timone, Marseille, France
10. Service de génétique, CHU de Poitiers, Poitiers, France
11. Laboratoire de génétique moléculaire et d'histocompatibilité , CHRU de Brest - Hôpital Morvan , Brest, France
12. Département de Génétique, CHU Paris - Hôpital Robert Debré, Paris, France
13. Département de génétique médicale, CHU de Marseille - Hôpital de la Timone, Marseille, France
14. Département de génétique , Eurofins Biomnis , Lyon, France
15. Département Biochimie et génétique, CHU d'Angers, Angers, France
16. Laboratoire de cytogénétique constitutionnelle, Centre de Biologie et Pathologie Est, CHU de Lyon HCL - GH Est, Lyon, France
17. UF de Génétique Moléculaire, CHU de Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, France
18. Biologie de la reproduction , CHU de Paris, Paris-Sud, Hôpital Antoine-Béclère, Paris, France
19. Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU Paris - Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
20. Service de génétique clinique chromosomique et moléculaire, CHU de Saint-Etienne - Hôpital Nord , Saint Etienne, France
21. Service d'histologie, embryologie et cytogénétique, CHU Paris - Hôpital Necker-Enfants Malades, Nantes, France
22. Service de génétique médicale, CHU de Nantes, Nantes, France
23. Service de génétique et embryologie médicales , CHU Paris Est - Hôpital d'Enfants Armand-Trousseau , Paris, France
24. Service de Génétique et Embryologie médicales, Hôpital d'Enfants Armand-Trousseau, Hôpitaux Universitaires Est Parisien, Paris, France
25. Service de Génétique et Embryologie médicales, , Hôpital d'Enfants Armand-Trousseau, Hôpitaux Universitaires Est Parisien, Paris, France
26. Laboratoire de Cytogénétique Constitutionnelle pré et postnatale , CHU Paris Centre - Maternité Port Royal , Paris, France
27. Laboratoire de génétique médicale , CHU de Nancy - Hôpital de Brabois , Nancy, France
28. Service de Génétique et Biologie de la Reproduction, , Hôpital Maison Blanche, Hôpital Universitaire de Reims, Reims, France
29. Laboratoire de cytogénétique constitutionnelle, Centre de Biologie et Pathologie Est, CHU de Lyon HCL-GH Est, Lyon, France

Mots clefs : Disomie Uniparentale (DUP), DUP14, DUP15, Translocation Robertsonienne, Diagnostic Prénatal

Résumé :

Le concept de disomie uniparentale (DUP) a été introduit pour la première fois par E. Engel en 1980 puis les premiers patients présentant un syndrome de Prader-Willi ou Angelman sans microdélétion 15q11q13 ont été décrits par R.D. Nicholls (1989) et S. Malcolm (1990). Entre 1990 et 2010 plus de 1000 cas de DUP ont été rapportés dont deux tiers présentaient un phénotype pathologique. Ces derniers concernent les chromosomes 6, 7, 11, 14 et 15 avec une prédominance de DUP du chromosome 15 (DUP15) (T Liehr 2010). Depuis une vingtaine d'année la recherche de DUP est proposée en anténatal si un des parents est porteur d'une translocation Robertsonienne équilibrée impliquant les chromosomes 14 et/ou 15. Dans ce cas, le risque de DUP chez le fœtus avait été estimé à 0.6% par L.G. Shaffer (2006). Le laboratoire du CHU de Nantes fait cette recherche depuis 15 ans sans jamais avoir identifié de DUP15 dans un contexte de translocation parentale.

L'objectif de cette étude est de réévaluer l'intérêt de rechercher une DUP en période prénatale dans un contexte de translocation parentale impliquant les chromosomes 14 et/ou 15 à partir des données de différents laboratoires français sous l'égide de l'ACLF.
Vingt-et-un laboratoires Français (21/49) ont répondu à notre demande. Sur 1625 analyses génétiques effectuées à la recherche d'une DUP14 ou 15 (968 tests de DUP14 et 657 tests de DUP15), un seul cas de DUP14 maternelle associée à une translocation Robertsonienne (13;14)mat a été diagnostiqué chez un fœtus. Les données provenant de ces 21 laboratoires de génétique montrent la rareté de ce mécanisme à l'origine de DUP14 et 15 (0.61‰). Ce risque est inférieur à celui de perte fœtale induite par un prélèvement fœtal invasif.
Nous discutons de l'intérêt de poursuivre la recherche d'une DUP en période anténatale lorsqu'un des parents est porteur d'une translocation Robertsonienne impliquant les chromosomes 14 et/ou 15.
Nous finissons de colliger les données d'autres centres Français afin de définir des recommandations nationales.

CO030 : Détection des CNV en mosaïque (mCNV) par séquençage d'exome dans les mosaïques cutanées pigmentaires grâce XHMM et à l'étude des SNP exoniques.

Auteurs :

Arthur Sorlin (1, 2), Émilie Tisserant (2), Julien Thevenon (1, 2), Yannis DUFFOURD (3, 2), Paul KUENTZ (3), Virginie Carmignac (3, 2), Smail Hadj Rabia (4), Valérie Cormier-Daire (5), Caroline Michot (5), Valérie Malan (6), Marie-Paule Beaujard (6), Fanny Morice-Picard (7), Sophie Naudion (7), Caroline Rooryck-Thambo (8), Catherine Vincent-Delorme (8), Thomas Smol (9), Élise Boudry-Labis (9), Alice Phan (10), Marie-Pierre Cordier (11), Marianne Till (11), Damien Sanlaville (11), Judith SAINT-ONGE (3), Anne-Laure Mosca Boidron (3, 12), Robert Olaso (13), Anne Boland (13), Jean-François Deleuze (13), Christel Thauvin-Robinet (14, 2), Boris Keren (15), Laurence FAIVRE (16, 2), Jean-Baptiste RIVIERE (3), Pierre VABRES (17, 3), Patrick Callier (12, 3)

1. Service de Génétique Médicale, CHU Dijon Bourgogne, Dijon, France
2. Fédération Hospitalo-Universitaire Médecine Translationnelle et Anomalies du Développement, CHU Dijon Bourgogne, Dijon, France
3. INSERM 1231, Génétique des Anomalies du Développement, Université Bourgogne-Franche Comté, Dijon, France
4. Service de dermatologie, Hôpital Universitaire Necker-Enfants Malades, Paris, France
5. Genetics Departement, Centre of Reference for Skeletal Dysplasia, INSERM UMR 1163, Institut Imagine, AP-HP, Hôpital Necker-Enfants malades, Paris, France
6. Service d'Histologie-Embryologie-Cytogénétique, Hôpital Universitaire Necker-Enfants Malades, Paris, France
7. Service de génétique médicale, CHU de Bordeaux-GH Pellegrin, Bordeaux, France
8. Laboratoire de génétique moléculaire, CHU de Bordeaux-GH Pellegrin, Bordeaux, France
9. Laboratoire de Génétique médicale, CHRU de Lille - Hôpital Jeanne de Flandre, Lille, France
10. Service de dermatologie pédiatrique, Hôpital Femme Mère Enfant, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
11. Service de génétique, Hôpital Femme Mère Enfant, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
12. Laboratoire de génétique moléculaire et de Cytogénétique, CHU Dijon Bourgogne, Dijon, France
13. Centre National de Recherche en Génomique Humaine, CEA, Evry, France
14. Service de génétique médicale, CHU Dijon Bourgogne, Dijon, France
15. Département de Génétique et Centre de Référence Déficiences Intellectuelles de Causes Rares, Hôpital de la Pitié-Salpétrière, Assistance Publique – Hôpitaux de Paris,, Paris, France
16. Service de Génétique Médicale, CHU de Dijon, Dijon, France
17. Service de Dermatologie, CHU de Dijon, Dijon, France

Mots clefs : Exome, CNV, mCNV, mosaïque, pigmentation cutanée, hypomélanose d'Ito

Résumé :

Le séquençage d'exome (*whole exome sequencing*, WES) a récemment été utilisé pour l'analyse des variations du nombre de copies (*copy number variants*, CNV). L'hypomélanose d'Ito et l'hypermélanose naevoïde font partie des troubles pigmentaires cutanés qui orientent vers un mosaïcisme sous-jacent. Dans diverses anomalies cutanées du développement en mosaïque, le WES permet de détecter des mutations post-zygotiques (*mosaic* SNV, mSNV) même lorsqu'elles ne sont présentes que dans un faible taux de cellules. Toutefois, la détection de CNV en mosaïque (mCNV) repose toujours sur l'Analyse Chromosomique sur Puce à ADN (ACPA) ou le caryotype. Nous avons entrepris d'étendre les applications diagnostiques du WES dans les anomalies cutanées du développement en mosaïque à la détection des mCNV.
Nous avons analysé par WES 57 patients porteurs d'anomalies du développement avec diverses atteintes cutanées en mosaïque, dont 19 patients avec une hypomélanose d'Ito. Tous ces patients avaient déjà eu des caryotypes sur sang ou sur fibroblastes cutanés, ou une ACPA, qui étaient demeurés négatifs. Pour cela nous avons comparé l'ADN de peau atteinte d'un patient à l'ADN sanguin de ses parents, et nous avons utilisé l'algorithme XHMM pour la détection des CNV et mCNV, ainsi qu'une approche *ad hoc* fondée sur l'analyse des SNP exoniques.
Nous avons détecté des mCNV chez 6 patients (11,5% sur l'ensemble de la cohorte), tous figurant parmi les 19 patients avec une hypomélanose d'Ito (32%). Trois avaient une trisomie complète du chromosome 7, 12 ou 15, avec un taux de mosaïcisme de 46%, 22% et 14%, respectivement. Trois étaient porteurs de mCNV de plus petite taille (gains de 34Mb en 3q26.1-q29 et de 20Mb en 6p22.3-p25, délétion de 18Mb en 13q12.11-q13.3). Tous les mCNV détectés par WES ont néanmoins été confirmés en ACPA, SNP-array et/ou FISH sur une biopsie de peau fraiche. Nous avons identifié des SNV pathogènes par WES chez 22 patients (38.5%). De plus, dans les 3 cas de trisomie en mosaïque, l'étude des SNP exoniques (transmission parentale et *b allele frequency*) a permis de déterminer l'origine parentale du chromosome surnuméraire et le mécanisme sous-jacent (non disjonction en méiose I, en méiose II ou en mitose).
Cette approche a permis d'améliorer notre rendement diagnostique de 32%. Nous avons confirmé par une méthode originale et sensible la fréquence des remaniements chromosomiques en mosaïque associés au mosaïcisme pigmentaire cutané (6 cas sur 19, soit 32%). Toutefois, leur rôle pathogène et le mécanisme des troubles pigmentaires demeurent inconnus. Notre méthode de recherche de mCNV ne nécessite qu'une biopsie de peau non cultivée, ce qui permet d'éviter l'élimination éventuelle du clone muté en cas de désavantage sélectif. Le WES à visée diagnostique dans les anomalies du développement en mosaïque

permet ainsi non seulement la détection des SNV et mSNV, mais aussi des CNV et mCNV en une seule technique, améliorant significativement le rendement diagnostique.

Abstract CNV mosaiques Assises 2018 vf.docx

CO031 : Rare Coding Variants in GAIA-1 and Familial Forms of Intracranial Aneurysm

Auteurs :

romain Bourcier (1, 2), solena Le scouarnec (2), Matilde Karakachoff (2, 3), Jean-Jacques Schott (2, 3), romain Simonet (2, 3), Pierre Lindenbaum (2), Bertrand Isidor (4), Christian Dina (2, 3), Stéphanie Chatel (2, 3), Stéphanie Bonnaud (2, 3), Hervé Le Marec (2, 3), Hubert Desal (1, 2), Gervaise Loirand (2, 3), Richard Redon (2, 3)

1. Department of Neuroradiology, CHU Nantes, France, CHU de Nantes, nantes, France
2. , INSERM, CNRS, UNIV Nantes, l'institut du thorax, Nantes, France, nantes, France
3. CHU Nantes, l'institut du thorax, Nantes, France , CHU de Nantes, nantes, France
4. Department of Medical Genetics, CHU de Nantes, nantes, France

Résumé :

Intracranial aneurysms (IA) are acquired cerebrovascular abnormalities characterized by a localized dilation and wall thinning in intracranial arteries. The main IA complication is the rupture, resulting in subarachnoid haemorrhage and possibly leading to severe outcome. IA pathogenesis is still largely unknown, with no reliable risk marker available so far. Here we have identified one rare nonsense variant (1617A>T) in the last exon of the *GAIA-1* gene, shared by the 4 tested affected members from a large pedigree with multiple IA carriers. We have showed a 50% reduction of GAIA-1 serum concentration in heterozygous 1617A>T careers compared to their non-carrier relatives, and found that this reduction results from the inability of the truncated protein (K460*-GAIA-1) produced by the transcripts carrying the 1617A>T variant to be secreted. By extending our genetic screen, we then identified other rare missense or frameshift variants in *GAIA-1,* carried by 5 out of 94 additional index cases with familial IA. We observed a significant enrichment (p=0.0004) in rare coding variants within this gene in our population of 95 index cases with familial IA, compared to a reference population of 63,339 NFE individuals. In total, among the 6 families, 11 out of 12 (92%) family members carrying IA also carry such variants in *GAIA-1, versus* only 14 out of 41 (34%) unaffected ones (p=0.0048). We also noticed a higher rate of individuals with a history of high blood pressure among affected *versus* healthy carriers of *GAIA-1* variants, suggesting that GAIA-1 could trigger lesions in the cerebral arterial wall when challenged by risk factors such as hypertension. Altogether, our results indicate that rare coding variants in *GAIA-1* are causally related to familial forms of IA.

CO032 : Les données secondaires issues du séquençage à haut débit : enjeux éthiques et psychologiques.

Auteurs :

Françoise HOUDAYER (1), Olivier PUTOIS (2, 3), Stéphanie STARACI (4, 5), Marylise BABONNEAU (6), Hélène CHAUMET (7), Elodie CRETIN (8, 3), Lorraine JOLY (9), Christine JUIF (9), Claire Cécile MICHON (6), Anne Sophie LAPOINTE (10, 11), Aurore PELLISIER (3, 12), Christine PEYRON (3, 12), Aline CHASSAGNE (8), Elodie GAUTIER (3), Julian DELANNE (9), Damien SANLAVILLE (13, 14), Christel THAUVIN (3, 9), Patrick EDERY (13, 15), Laurence FAIVRE (3, 9)

1. Génétique clinique, Hospices civils de Lyon, BRON, France
2. SuLiSom EA 3071, Université de Strasbourg, Strasbourg, France
3. FHU TRANSLAD, CHU Dijon, Dijon, France
4. Génétique Clinique , GH Pitié Salpêtrière, Paris, France
5. Laboratoire PCPP, Université René Descartes, Paris, France
6. Filière Nationale de Santé Cardiogen, GH Pitié Salpêtrière, Paris, France
7. Oncogénétique, HCL Lyon, LYON, France
8. CIC INSERM 1431, CHRU Besançon, Besançon, France
9. Centre de Référence Anomalies du Développement, CHU Dijon, Dijon, France
10. Alliance Maladies Rares, CHU Dijon, Paris, France
11. Filière AnDDI-Rares, CHU Dijon, Dijon, France
12. LEDI UMR6307 CNRS U1200 INSERM, Université de Bourgogne, Dijon, France
13. Génétique Clinique , HCL Lyon, LYON, France
14. INSERM U1028 CNRS UMR5292 CNRL GENDEV Team , HCL Lyon, Bron, France
15. INSERM U1028 CNRS UMR5292 CNRL GENDEV Team , Université Claude Bernard Lyon 1 , LYON, France

Mots clefs : Données secondaires - Séquençage Haut Débit - Psychologie - Ethique - Anomalies du développement.

Résumé :

Dans le cadre des enjeux éthiques et psychologiques liées aux données secondaires (DS) issues du séquençage à haut débit (SHD), nous présentons les résultats de deux études distinctes. La première nommée SEQUAPRE avait comme objectif d'étudier les préférences et représentations des parents d'enfants atteints d'anomalies du développement vis-à-vis du SHD. Après un temps d'information dédié à la notion de résultats incertains et fortuits, 513 questionnaires basés sur des scénarios hypothétiques dans le cadre de la méthode des choix discrets (DCE) ont été recueillis. Ils ont montré que les parents valorisent globalement positivement la communication des résultats incertains et secondaires, ce qui est concordant avec les résultats de la littérature médicale sur le sujet.
La seconde étude, nommée PADAP, a convié des parents et des patients à une réflexion ouverte sur l'opportunité technologique d'accéder à des DS actionnables identifiées par SHD. Après une matinée d'information médicale sur le SHD et la liste des gènes actionnables proposée par l'ACMG, les participants ont été répartis dans 5 focus groupes animés par des psychologues cliniciens. L'objectif était de recueillir leurs avis concernant l'accès aux DS par analyse qualitative des verbatim. Le groupe 1 de parents d'enfants sans diagnostic a révélé une forte quête d'informations médicales exhaustives incluant la révélation de DS. Les 4 autres groupes de sujets concernés par l'annonce d'une prédisposition ont été constitués par type de pathologies : groupe 2 en oncogénétique, groupe 3 en cardiogénétique, groupe 4 pour des maladies métaboliques et groupe 5 pour des sujets porteurs hétérozygotes d'une pathologie rare autosomique récessive. Les préférences ont été beaucoup plus ambivalentes que dans le groupe 1. Les arguments contre la recherche des DS concernaient le caractère anxiogène des surveillances médicales régulières et du statut de porteur asymptomatique, ainsi qu'un vécu traumatique de diagnostic en oncogénétique et cardiogénétique notamment. La notion d'utilité médicale a fait débat au regard de l'impact psychologique de tels diagnostics, de même que l'annonce de DS aux mineurs. Néanmoins, ont fait consensus : le fait de laisser le choix aux patients ; l'importance de ne pas retreindre l'information aux seuls aspects médicaux ; la pertinence d'un délai de réflexion; la nécessité d'un accompagnement psychologique ; et la prise en compte du moment auquel survient l'annonce au cours de la vie. Il est aussi apparu important de préciser la notion de gène actionnable dont l'impact psychique diffère suivant qu'il s'agit de l'annonce d'un risque, d'une prédisposition, de l'accès à de la prévention ou à des traitements.
En conclusion, les attentes et les représentations des personnes diffèrent selon qu'on se trouve en amont d'une annonce diagnostique ou dans l'après-coup, mettant en avant le caractère singulier de chaque situation tant du point de vue médical que du vécu psycho affectif.

FINAL Houdayer - Putois Assises 2018.docx

CO033 : Un nouveau modèle murin humanisé pour la duplication de 24pb d'ARX récapitule les caractéristiques cliniques et les altérations motrices fines retrouvées chez les patients

Auteurs :

Aline Dubos (1), Hamid Meziane (2), Giovanni Iacono (3), Aurore Curie (4), Fabrice Riet (2), Christelle Martin (5), Nadège Loaëc (6), Marie-Christine Birling (2), Mohammed Selloum (2), Elisabeth Normand (5), Guillaume Pavlovic (2), Tania Sorg (2), Henk G. Stunnenberg (3), Jamel Chelly (1), Yann Humeau (5), Yann Hérault (7), Gaëlle Friocourt (6)

1. CNRS UMR7104, INSERM, U964, IGBMC, Strasbourg, France
2. CELPHEDIA, PHENOMIN, Institut Clinique de la Souris, Strasbourg, France
3. Department of Molecular Biology, Radboud Institute for Molecular Life Sciences, Radboud University, Nijmegen, Pays-Bas
4. Centre de Référence Déficiences Intellectuelles de Causes Rares, Université Claude Bernard Lyon, Lyon, France
5. Institut Interdisciplinaire de NeuroScience, CNRS UMR5297, Université de Bordeaux, Bordeaux, France
6. Inserm UMR1078, Université Bretagne Occidentale, Brest, France
7. IGBMC CNRS,, ICS, Strasbourg, France

Mots clefs : ARX, neurones GABAergiques, modèle murin, déficience intellectuelle

Résumé :

The Aristaless-related homeobox (ARX) transcription factor is involved in the development of GABAergic and cholinergic neurons in the forebrain. *ARX* mutations have been associated with a wide spectrum of neurodevelopmental disorders in humans, among which the most frequent, a 24bp duplication in the protein polyalanine tract 2 (*c.428_451dup24*), gives rise to intellectual disability, fine motor defects with or without epilepsy.
To understand the functional consequences of this mutation, we generated a partially humanized mouse model carrying the *c.428_451dup24* duplication ($Arx^{dup24/0}$) that we characterized at the behavior, neurological and molecular level. $Arx^{dup24/0}$ males presented with hyperactivity, enhanced stereotypies and altered contextual fear memory. In addition $Arx^{dup24/0}$ males had fine motor defects with alteration of reaching and grasping abilities, reminiscent of the very specific upper limb distal motor apraxia associated with a pathognomonic hand-grip observed in ARXdup24 patients. Transcriptome analysis of $Arx^{dup24/0}$ forebrains at E15.5 showed a down-regulation of genes specifically expressed in interneurons associated with an up-regulation of genes normally silenced in interneurons, suggesting abnormal interneuron development. Accordingly, interneuron migration was altered in the cortex and striatum between E15.5 and P0 with consequences in adults, illustrated by the defect in the inhibitory/excitatory balance in $Arx^{dup24/0}$ basolateral amygdala. Altogether, we showed that the *c.428_451dup24* mutation disrupts *Arx* function with a direct consequence on interneuron development, leading to hyperactivity and defects in precise motor movement control and associative memory. Interestingly, we highlighted striking similarities between the mouse phenotype and a cohort of 33 male patients with *ARX c.428_451dup24*, suggesting that this new mutant mouse line is a good model for understanding the pathophysiology of this mutation and evaluation of treatment.

abstract assises genetique Friocourt 2018.docx

CO034 : Analyse d'Exome de 20 familles consanguines d'ataxie congénitale : nouveaux gènes et extension phénotypique pour des gènes d'encéphalopathies épileptiques précoces

Auteurs :

Stéphanie VALENCE (1, 2), Catherine GAREL (3), Sandra CHANTOT BASTARAUD (4), Alexandra AFENJAR (5), Damien HAYE (5), Diana RODRIGUEZ (1, 6), Lydie BURGLEN (5, 2)

1. Neurologie pédiatrique, CRMR "malformations et maladies congénitales du cervelet", APHP - Hôpital Trousseau, PARIS, France
2. INSERM U1141, APHP - Hôpital Trousseau, PARIS, France
3. Radiologie Pédiatrique, APHP - Hôpital Trousseau, PARIS, France
4. Laboratoire de cytogénétique, APHP - Hôpital Trousseau, PARIS, France
5. Génétique médicale, CRMR "malformations et maladies congénitales du cervelet", APHP - Hôpital Trousseau, PARIS, France
6. GRC ConCer-LD, Sorbonne Universités, , UPMC Université, PARIS, France

Mots clefs : ataxie congénitale, Whole Exome Sequencing, epilepsy

Résumé :

Introduction : Les ataxies congénitales (AC) sont définies cliniquement par des symptômes cérébelleux précoces dès les premiers mois de vie. Il s'agit habituellement d'une pathologie non progressive mais il est parfois difficile de distinguer ces AC des ataxies très lentement progressives à début très précoce (APDP). Cette entité clinique, comportant fréquemment une déficience intellectuelle et parfois d'autres signes neurologiques, épilepsie, syndrome pyramidal, neuropathie, correspond à un groupe hétérogène également sur le plan physiopathologique et génétique. En dehors du syndrome de Joubert, qui est une forme particulière d'AC, plus de 30 gènes impliquant des voies physiopathologiques variées ont été identifiés et mais de nombreux patients restent sans diagnostic génétique.
Objectif, patients et méthodes : Afin d'identifier de nouveaux gènes candidats, nous avons réalisé une analyse d'exome en solo chez 20 patients atteints d'AC issus d'union consanguine, ayant bénéficié d'une IRM, d'une SNP array et d'explorations initiales ne conduisant pas à un diagnostic syndromique, sélectionnés parmi 200 patients de notre cohorte. Les variants ont été filtrés en fonction de leur fréquence dans les bases de données, leur pathogénicité et la nature du gène candidat, en privilégiant d'une part les variants homozygotes, et d'autre part, les variants situés dans l'un des gènes de notre liste de gènes connus (dominants et récessifs) impliqués dans les AC et les APDP. La cohorte de réplication a été utilisée pour rechercher une récurrence de variants pathogènes dans les gènes nécessitant validation (nouveau phénotype, nouveau gène).
Résultats : Nous avons identifié des variants causals ou très probablement causals chez 15/20 des patients (75%) : chez 5 patients, il s'agit de variants pathogènes dans 4 gènes connus d'AC (3) et d'APDP (1); chez 8 patients, de variants pathogènes dans 5 gènes impliqués dans d'autres phénotypes neurologiques, dont 3 gènes responsables d'un tableau d'encéphalopathie épileptique précoce (*STXBP1, CACNA2D2, BRAT1*); chez 2 patients, de variants dans 2 nouveaux gènes candidats. Chez 3/15 patients, malgré la consanguinité, une mutation dominante *de novo* a été identifiée (gènes *ITPR1, STXBP1*). La cohorte de réplication a permis d'observer une récurrence pour 4 des 5 gènes nécessitant validation.
Conclusion : cette étude a permis l'identification du gène responsable de l'AC chez 75% de nos patients. Elle confirme la part non négligeable des mutations *de novo* dans les AC comme dans d'autres pathologies neurodéveloppementales, même en cas de consanguinité. Enfin, elle illustre l'importante hétérogénéité génétique des AC et permet d'établir un lien physiopathologique certain entre celles-ci et certaines formes d'encéphalopathies épileptiques.

CO035 : Estimation de la contribution des variants rares de TREM2, SORL1 et ABCA7 au risque de la maladie d'Alzheimer : analyse des exomes et génomes de 1779 cas et 1273 contrôles

Auteurs :

Gaël Nicolas (1), Céline Bellenguez (2), Camille Charbonnier (3), Benjamin Grenier-Boley (2), Olivier Quenez (1), Kilan Le Guennec (3), Ganesh Chauhan (4), David Wallon (5), Stéphane Rousseau (1), Anne-Claire Richard (1), Anne Boland (6), Guillaume Bourque (7), Hans Markus Munter (7), Robert Olaso (6), Vincent Meyer (6), Adeline Rollin-Sillaire (8), Florence Pasquier (8), Luc Letenneur (4), Richard Redon (9), Jean-François Dartigues (4), Christophe Tzourio (4), Thierry Frebourg (1), Mark Lathrop (7), Jean-François Deleuze (6), Didier Hannequin (10), Emmanuelle Génin (11), Philippe Amouyel (2), Stéphanie Debette (4), Jean-Charles Lambert (2), Dominique Campion (12)

1. Département de Génétique et Centre National de Référence pour les Malades Alzheimer Jeunes, CHU de Rouen et Inserm U1245, UNIROUEN, Normandie Univ, Centre Normand de Génomique et de Médecine Personnalisée, Inserm, Université de Rouen et CHU de Rouen, Rouen, France
2. , Institut Pasteur de Lille, Lille, France
3. Inserm U1245, UNIROUEN, Normandie Univ, et Département de Génétique, et Centre National de Référence pour les Malades Alzheimer Jeunes, CHU de Rouen, Centre Normand de Génomique et de Médecine Personnalisée, Inserm, Université de Rouen et CHU de Rouen, Rouen, France
4. Inserm UMR1219, Univ. Bordeaux, Bordeaux, France
5. Département de Neurologie et Centre National de Référence pour les Malades Alzheimer Jeunes, CHU de Rouen et Inserm U1245, UNIROUEN, Normandie Univ, Centre Normand de Génomique et de Médecine Personnalisée, Inserm, Université de Rouen et CHU de Rouen, Rouen, France
6. Centre National de Recherche sur le Génome Humain, CEA, CNRGH, Evry, France
7. , McGill University and Génome Québec Innovation Centre, Montréal, Canada
8. Service de Neurologie et Centre National de Référence pour les Malades Alzheimer Jeunes, CHU de Lille, Lille, France
9. Inserm UMR-1087 / CNRS UMR 6291, l'institut du thorax, Univ Nantes, Nantes, France
10. Département de Neurologie, Département de Neurologie et Centre National de Référence pour les Malades Alzheimer Jeunes, CHU de Rouen et Inserm U1245, UNIROUEN, Normandie Univ, Centre Normand de Génomique et de Médecine Personnalisée, Inserm, Université de Rouen et CHU de Rouen, Rouen, France
11. Inserm UMR-1078, CHRU Brest, Univ. Brest, Brest, France
12. Inserm U1245, UNIROUEN, Normandie Univ, et Département de Génétique, et Centre National de Référence pour les Malades Alzheimer Jeunes, CHU de Rouen, Centre Normand de Génomique et de Médecine Personnalisée et Département de Recherche, Centre Hospitalier du Rouvray, Inserm, Université de Rouen, CHU de Rouen et Centre Hospitalier du Rouvray, Rouen, France

Mots clefs : Alzheimer, exome, génome, association, variants rares, héritabilité, facteur de risque, maladie complexe

Résumé :

La maladie d'Alzheimer (MA) est une maladie complexe avec une composante génétique importante. Des variants rares de *TREM2*, *SORL1* et *ABCA7* ont été récemment associés au risque de MA. Néanmoins, les analyses étaient restreintes en termes de variants, de catégories d'âge de début, ou de tailles d'échantillons.
Afin d'évaluer l'effet des variants rares de ces gènes sur le risque de MA, nous avons généré et analysé les données d'exomes (n=2106) et de génomes (n=955) d'ADES-FR, une étude collaborative comprenant les effectifs parmi les plus importants de cas (1779) – contrôles (1273) dans la MA. Les cas sont répartis selon l'âge de début précoce (< 66 ans, n=852) et tardif (n=907). Nous avons réalisé une détection multi-échantillons des variants et des contrôles qualité extensifs, suivis d'une analyse d'association au niveau du gène par tests de charge (burden test) et de variance (SKAT), focalisée sur les gènes *TREM2*, *SORL1* et *ABCA7*, et 3 gènes dont une association avec la MA a récemment été décrite mais reste controversée : *PLD3*, *AKAP9* et *UNC5C*.
L'aggrégation des variants rares (MAF < 1%) disruptifs (non-sens, sites canoniques d'épissage, ou décalant le cadre de lecture) et faux sens prédits délétères par les 3 outils utilisés (strictement délétères, SD), a permis d'identifier une association significative à l'échelle de l'exome (p < 2,5e-6) entre le risque de MA précoce et *TREM2* (OR (odds ratio)=6.3, 95% IC=[2.9-13.9], p=2.3e-7), *SORL1* (OR=3.4 [2.1-5.6], p=1.6e-7) et *ABCA7* (OR=2.5 [1.7-3.8], p=9.3e-7). L'association avec *TREM2* était robuste à l'exclusion du variant p.R47H, rapporté comme associé avec le risque de MA. Aucun signal ne passait le seuil de significativité requis concernant les patients avec une MA à début tardif et une significativité de l'ordre de 10-6 était observée pour l'ensemble des patients pour les variants disruptifs et SD (DSD) de *TREM2* (OR=4.8 [2.3-10.1], p=6.2e-6). Aucune association n'a été identifiée avec les variants rares de *PLD3*, *UNC5C* et *AKAP9*.
Avec une MAF cumulée de 0.63% parmi les contrôles et un OR de 6.3, les variants rares DSD de *TREM2* expliquaient 1.17% de l'héritabilité de la MA précoce, ceux de *SORL1* en expliquaient 1.42% (OR=3.4, MAF cumulée de 1.89%), et pour *ABCA7*, 1.33% (OR=2.5, MAF cumulée de 3.22%). En comparaison, 9.12% de l'héritabilité de la MA précoce était attribuable au facteur de risque commun à effet fort *APOE4*.
Notre étude confirme et élargit les résultats d'association au niveau du gène concernant *TREM2*, *SORL1* et *ABCA7*, et précise les catégories de variants et de patients. Avec des échelles d'effets différentes (*TREM2* > *SORL1* > *ABCA7*) et des MAF

cumulées inversement corrélées, les variants rares DSD des 3 gènes contribuent de manière similaire à l'héritabilité de la MA précoce. Ces résultats constituent une première étape vers un calcul de risque personnalisé permettant potentiellement une médecine génomique préventive dans la MA précoce, en plus des très rares formes autosomiques dominantes.

ASHG_abstract_2017_français assises 2018 Nantes.docx

CO036 : L'implication du gène KIF1A/SPG30 dans le diagnostic moléculaire des paraplégies spastiques héréditaires : un gène majeur

Auteurs :

Guillaume Banneau (1), Laurène Tissier (1), Bophara Kol (1), Estelle Fedirko (1), Isabelle David (1), Laure Raymond (1), Giovanni Stevanin (2), Alexandra Durr (1), Caroline Nava (1), Fabienne Clot (1), Cécile Cazeneuve (1), Eric Leguern (1)

1. Fédération de Génétique, CHU Pitié-Salpêtrière, Paris, France
2. 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 : paraplégies spastiques, diagnostic, KIF1A, SPG30

Résumé :

Les paraplégies spastiques héréditaires sont des maladies neurologiques rares, phénotypiquement et génétiquement très hétérogène, 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.. 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. Nous avons récemment développé une stratégie de séquençage ciblé moyen débit permettant l'étude simultanée de 65 gènes. Depuis son utilisation en routine, plus de 800 patients ont pu être explorés dans le cadre d'un diagnostic moléculaire de paraplégie spastique. Pour 28% des patients explorés, il a été possible d'identifier le gène responsable de la pathologie, et pour 10% des cas, des études de ségrégation de variant(s) dans la famille sont encore nécessaires pour statuer définitivement. Si comme attendu le panel a permis d'identifier des mutations dans des gènes fréquemment mutés dans les paraplégies spastiques (*ATL1/SPG3A*, *SPAST/SPG4*, SPG7 et *SPG11*) il a également permis d'observer de nombreux cas de patients portant une mutation du gène *KIF1A/SPG30*. Le gène *KIF1A* avait initialement été décrit comme responsable de paraplégie spastique de forme complexe et de transmission autosomique récessive, mais plusieurs publications ont depuis montré son implication chez des patients présentant des paraplégies spastiques de transmission autosomique dominante avec des formes pures ou complexes. Notre grande série de patients présentant une mutation du gène *KIF1A* (plus de 30 patients) démontre[A1] que ce gène est le 2nd gène le plus fréquemment impliqué dans cette pathologie (après le gène *SPAST/SPG4*) et qu'il est très majoritairement associé à des formes dominantes ou *de novo*. Les mutations observées sont quasi exclusivement du type faux-sens et localisées dans le domaine moteur de la protéine qui appartient à la famille des kinésines. Une situation similaire est retrouvée pour le gène *KIF5A* qui code également pour une protéine de cette famille. .Ces observations tendent à soutenir l'hypothèse déjà développée que les mutations de ces 2 gènes seraient des mutations de type dominant négatif.

CO037 : Les mutations homozygotes du gène FLAG69 sont responsables d'infertilité masculine primaire due à des anomalies morphologiques multiples du flagelle du spermatozoïde (MMAF)

Auteurs :

Guillaume MARTINEZ (1), Frédérique DONG (2), Amir Amiri-Yekta (3), Julie TEK (4), Pauline Le Tanno (3), Raoudha Zouari (5), Thomas Karaouzène (6), Véronique SATRE (7), Patrick Lores (4), Christophe Arnoult (8), Aminata Touré (9), Haiqing Zhao (2), Pierre RAY (6), Charles COUTTON (7)

1. Equipe "Genetics Epigenetics and Therapies of Infertility", INSERM U823, Institut Albert Bonniot, Grenoble, France
2. Department of Biology, The Johns Hopkins University, Baltimore, Etats-Unis
3. Equipe "Genetics Epigenetics and Therapies of Infertility INSERM 1209, CNRS UMR 5309, Institute for Advanced Biosciences, Grenoble, France
4. INSERM U1016, Institut Cochin, Paris, France
5. Clinique des Jasmin, Clinique des Jasmin, Tunis, Tunisie
6. UF de Biochimie Génétique et Moléculaire, CHU Grenoble, Grenoble, France
7. Laboratoire de Génétique Chromosomique, CHU Grenoble, Grenoble, France
8. Equipe , Institut Albert Bonniot, Grenoble, France
9. Inserm U1016-CNRS UMR8104-Université Paris Descartes, Institut Cochin, PARIS, France

Mots clefs : infertilité masculine, génétique, MMAF, flagelles, axonème, exomes, CRISPR

Résumé :

L'infertilité masculine représente un enjeu de santé publique de ces dernières décennies. Bien que multifactorielle, l'infertilité masculine a une composante génétique importante. Dans le cadre de notre projet ANR «MAS FLAGELLA» nous avons constitué une cohorte de 78 patients présentant une infertilité primaire liée à par des anomalies morphologiques multiples des flagelles (MMAF). Précédemment, nous avons pu mettre en évidence des mutations dans 3 gènes codant pour des protéines axonémales du flagelle du spermatozoïde *DNAH1*, *CFAP43* et *CFAP44* chez environ 30% des patients MMAF. Ces résultats suggèrent qu'environ 70% des patients restant sont porteurs de mutations dans d'autres gènes.
Un séquençage exomique complet (WES) de notre cohorte a été réalisé. Après mise en place d'un pipeline bio-informatique spécifique, nous avons pu identifier 1 mutation stop et 1 mutation d'épissage dans le gène *FLAG69* chez 2 patients non apparentés. Ces 2 mutations ont été confirmées en Sanger et n'ont jamais été décrite dans les bases de bases de données publiques de polymorphismes (dbSNP, gnomAD). Le gène *FLAG69* code pour une protéine de la famille des protéines à domaine Armadillo dont la fonction est encore peu connue. Cependant, des analyses de protéomiques ont montré que cette protéine était enrichie dans les flagelles d'espèce comme C*hlamydomonas* et nos données de RT-qPCR montrent que son expression est prédominante au niveau du testicule.
Les analyses par immunofluorescence avec un anticorps anti-FLAG69 sur les spermatozoïdes de nos 2 patients mutés montrent une disparition complète du signal. Ces données corroborent les analyses de RT-PCR effectuées à partir d'ARN lymphocytaire chez le patient avec la mutation d'épissage montrant l'absence total de transcrit. Le marquage FLAG69 se localise uniquement au niveau de la pièce intermédiaire des spermatozoïdes contrôles. Pour valider l'implication de ce gène dans le phénotype, des souris inactivées pour le gène *Flag69* ont été produites par CRISPR/Cas9 en collaboration avec l'université Johns-Hopkins (Baltimore, USA, Pr Zhao). Les souris males *Flag69*$^{-/-}$ sont infertiles et présentent des spermatozoïdes avec des anomalies similaires à celles observées chez nos deux patients MMAF mutés. Les analyses par microscopie électronique de ces spermatozoïdes ont mis en évidence une désorganisation très sévère de l'axonème ainsi que des pièces péri-axonémales (mitochondries, gaine, fibres denses) du flagelle.
Au final, nous avons pu mettre en évidence pour la première fois des mutations pathogènes dans le gène *FLAG69* chez 2 patients MMAF et confirmer l'implication de ce gène dans le phénotype par un modèle murin CRISPR/Cas9. La localisation de la protéine FLAG69 restreinte à la pièce intermédiaire ouvre des hypothèses intéressantes pour la fonction de la protéine qui pourrait avoir un rôle dans la transduction du signal impliqué dans la biogénèse du flagelle du spermatozoïde.

CFAP69 abstract Martinez et al. Assises 2018.docx

CO038 : Analyse du gène NR5A1 chez une cohorte de 130 patientes présentant une diminution de la réserve ovarienne et prises en charge en don d'ovocyte

Auteurs :

Sylvie Jaillard (1, 2), Christele Dubourg (3, 4), Gorjana Robevska (5), Marion Beaumont (1), Linda Akloul (6), Jean-Maxime Girard (7), Celine Pimentel (8), Sylvie Odent (9, 4), Katie Ayers (5), Marc-Antoine Belaud-Rotureau (1, 2), Célia Ravel (7, 2)

1. Service de Cytogénétique et Biologie Cellulaire, CHU Rennes, F-35033, Rennes, France
2. INSERM U1085-IRSET, Universite de Rennes 1, F-35042 Rennes, Rennes, France
3. Service de Genetique Moleculaire, CHU Rennes, F-35033, Rennes, France
4. IGDR UMR 6290 CNRS, Universite de Rennes 1, F-35042 Rennes, Rennes, France
5. Murdoch Childrens Research Institute, Royal Children Hospital, Melbourne, Australie
6. Service de Génétique Clinique, CLAD Ouest, CHU Rennes, F-35033, Rennes, France
7. Service de Biologie de la Reproduction-CECOS, CHU Rennes, F-35033, Rennes, France
8. Departement de Gynecologie Obstetrique et Reproduction Humaine, CHU Rennes, F-35033, Rennes, France
9. Service de Génétique Clinique, CHU Rennes, F-35033, Rennes, France

Mots clefs : NR5A1, diminution de la réserve ovarienne, insuffisance ovarienne prématurée, DSD

Résumé :

Le nombre de follicules / ovocytes disponibles au sein des ovaires correspond à la réserve ovarienne (RO), qui peut être évaluée par des dosages hormonaux tels que celui de la FSH ou de l'AMH ou par le compte des follicules antraux (CFA). Une RO basse, dont la conséquence est une diminution de la fertilité, est définie par une AMH<1.1 ng/ml ou un CFA<5. Cette situation est le plus souvent liée à l'âge mais elle peut survenir de façon prématurée avant 40 ans. L'insuffisance ovarienne prématurée (IOP) est caractérisée par la survenue de troubles des menstruations, notamment aménorrhée, associés à une élévation du taux sanguin de la FSH et une baisse du taux de l'œstradiol. L'IOP a souvent une cause génétique, chromosomique ou génique. Les gènes identifiés sont impliqués dans différents processus comme le développement gonadique, la méiose, la folliculogenèse, l'apoptose, le fonctionnement mitochondrial et la stéroidogenèse. Parmi les gènes associés à l'IOP, le gène *NR5A1* est impliqué dans cette dernière fonction et plus de 160 variants différents sont actuellement rapportés dans la base de données Human Gene Variant Database. Ils ont principalement été décrits chez des patients présentant un trouble du développement sexuel 46,XY DSD mais ont également été observés chez des patientes 46,XX présentant une IOP et correspondant souvent aux apparentées des patients 46,XY DSD. Nous rapportons les résultats du séquençage du gène *NR5A1* chez une cohorte de 130 patientes âgées de moins de 40 ans, présentant une diminution de la RO et prises en charge en don d'ovocytes (AMH<0.4 ng/ml et échec de FIV/ICSI). Les variants observés correspondent à huit variants introniques non situés au niveau d'un site consensus d'épissage et à neuf variants d'exons. Parmi ces derniers, concernant majoritairement le domaine Hinge de la protéine, quatre sont des variants synonymes répertoriés dans les bases de données de population et cinq sont des variants faux-sens. Un de ces derniers est décrit comme polymorphisme dans la littérature. Trois des variants faux-sens ont été rapportés dans la littérature comme pathogéniques, observés en cas de DSD 46,XY pour un et d'IOP ou échec de la spermatogenèse pour deux. Enfin, une patiente présente un variant faux-sens observé peu fréquemment dans la population générale, qui n'a pas encore été décrit en pathologie et pour laquelle des études fonctionnelles vont être réalisées pour évaluer le niveau d'activité de la protéine mutée (évaluation de l'activité trans-activationnelle par le système Dual-Luciferase Reporter Assay). Au total, 3% des patientes présentent un variant pouvant être impliqué dans le phénotype. Outre la description d'un nouveau variant en pathologie, cette étude confirme la grande variabilité phénotypique pouvant être rencontrée en cas de variant du gène *NR5A1*, avec pour les patientes 46,XX la possibilité de réversion sexuelle, d'IOP mais également de diminution de la RO précédant une IOP.

NR5A1 assises 2018.doc

CO039 : Absence bilatérale des canaux déférents : épidémiologie des mutations du gène ADGRG2 et premières explorations sur un lien fonctionnel putatif avec CFTR

Auteurs :

Adrien Pagin (1), Aurore Siegfried (2), Christelle Willoquaux (1), Anne Bergougnoux (3), Caroline Raynal (3), Emmanuelle Girodon (4), Thierry Bienvenu (4), Marie-Pierre Reboul (5), Patricia Fergelot (5, 6), Guy Lalau (1), Monique Courtade-Saïdi (2), Eric Bieth (7)

1. Toxicologie et Génopathies, CHRU Lille, Lille, France
2. Département d'Anatomie et Cytologie Pathologiques, CHU Toulouse, Toulouse, France
3. laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU Montpellier, Montpellier, France
4. Service de Génétique et Biologie Moléculaires, Groupe Hospitalier Cochin-Broca-Hotel Dieu, Paris, France
5. Service de Génétique Médicale, CHRU Bordeaux, Bordeaux, France
6. Inserm U1211, Université de Bordeaux, Bordeaux, France
7. Service de Génétique Médicale, CHU Toulouse, Toulouse, France

Mots clefs : Infertilité masculine, Absence Bilatérale des Canaux Déférents, ADGRG2, CFTR-related disorder

Résumé :

Une absence bilatérale des canaux déférents (ABCD) est diagnostiquée chez plus de 25% des hommes présentant une azoospermie obstructive. Dans 80% des cas, l'analyse du gène *CFTR*, également impliqué dans la mucoviscidose, permet d'identifier au moins une altération faisant suspecter un «*CFTR*-related disorder». Nous avons récemment identifié la présence de mutations perte de fonction du gène *ADGRG2* (Xp22.13) chez des patients présentant une ABCD bien caractérisée, sans mutation du gène *CFTR (Patat et al, 2016 AJHG). ADGRG2* code pour un récepteur transmembranaire couplé aux protéines G, exprimé spécifiquement au niveau de l'épididyme et des canaux efférents, dont la fonction est mal connue.
Le fait que le phénotype d'ABCD des patients mutés *ADGRG2* soit indistinguable de celui des patients mutés *CFTR* soulève la question d'un éventuel lien fonctionnel entre les 2 gènes. Une étude rétrospective au sein du réseau GENMUCOFRANCE a été initiée afin de préciser la fréquence des mutations du gène *ADGRG2* chez des patients avec 0 ou 1 mutation *CFTR* identifiée. En parallèle, des analyses d'immunohistochimie ont été réalisées sur des tissus épididymaires de patients porteurs de mutations *CFTR* ou *ADGRG2*.
55 nouveaux patients ont pu être recrutés dans cinq centres dont 29 (53%) hétérozygotes pour une mutation du gène *CFTR*.
5 nouvelles mutations perte de fonction ont été identifiées chez 6 patients. La fréquence des mutations *ADGRG2* est similaire en présence d'une mutation *CFTR* (3/29=10.3%) et en l'absence de mutation *CFTR* (3/26=11.5%). Aucun variant faux-sens potentiellement délétère n'a été identifié. Ainsi, la perte de fonction du récepteur ADGRG2 peut suffire à expliquer les 6 cas d'ABCD et il n'y a pas d'argument suggérant, chez les 3 patients également porteurs d'une mutation *CFTR,* un mécanisme physiopathologique impliquant une action combinée des deux gènes.
Néanmoins, les résultats des analyses immunohistochimiques montrent une colocalisation du récepteur ADGRG2 et du canal CFTR au niveau du pole apical des cellules épithéliales des canaux efférents, alors que sur l'épididyme ADGRG2 apparait plus exprimé que CFTR. Chez le patient muté *ADGRG2* le marquage ADGRG2 C-terminal disparait tandis que le marquage CFTR est conservé et amplifié au niveau de l'épididyme. Inversement, chez le patient porteur de deux mutations du gène *CFTR* le marquage CFTR est altéré tandis que le marquage ADGRG2 est conservé.
Au total, cette étude multicentrique a permis de confirmer l'implication du gène *ADGRG2* dans environ 5% des cas d'ABCD et d'en préciser le spectre mutationnel. L'absence de protéine ADGRG2 ne semble pas impacter significativement l'expression et l'adressage de CFTR au pôle apical des cellules, et inversement. D'autres investigations seront nécessaires afin d'élucider le mécanisme par lequel les mutations *ADGRG2* altèrent la réabsorption des fluides au niveau des canaux efférents et sont à l'origine d'un phénotype similaire à celui lié aux mutations *CFTR*.

Assises2018_v_finale4.doc

CO040 : Test ADN fœtal circulant versus dépistage combiné pour la trisomie 21 foetale chez les patientes avec ou sans AMP; étude prospective interventionnelle

Auteurs :

Jean-Marc Costa (1), Alexandra Letourneau (2), Romain Favre (3), Laurent Bidat (4), Joelle Belaisch-Allart (5), Jean-Marie Jouannic (6), Edwin Quarello (7), Marie-Victoire Senat (8), Bernard Broussin (9), Vassilis Tsatsaris (10), Adele Demain (2), Pascale Kleinfinger (1), Laurence Lohmann (1), Helene Agostini (11), Jean Bouyer (12), Alexandra Benachi (2)

1. Département de Biologie Spécialisée et de Génétique Humaine, Laboratoire CERBA, Saint-Ouen l'Aumône, France
2. Service de Gynécologie-Obstétrique, AP-HP Hôpital Antoine Béclère, Clamart, France
3. Service de Gynécologie-Obstétrique, SIHCUS-CMCO, Schiltigheim, France
4. Service de Gynécologie-Obstétrique, Centre Hospitalier René Dubos, Pontoise, France
5. Service de Gynécologie-Obstétrique, Centre Hospitalier des Quatre Villes, Saint-Cloud, France
6. Service de Gynécologie-Obstétrique, AP-HP, Hôpital Armand-Trousseau, Paris, France
7. Service de Gynécologie-Obstétrique, Institut de Médecine de la Reproduction, Marseille, France
8. Service de Gynécologie-Obstétrique, AP-HP, Hôpital Bicêtre, Le Kremlin-BIcêtre, France
9. Service de Gynécologie-Obstétrique, Hôpital Bagatelle, Talence, France
10. Service de Gynécologie-Obstétrique, AP-HP,Hôpital Cochin Port-Royal, Paris, France
11. Unité de Recherche clinique des Hôpitaux Paris Sud, AP-HP, Hôpital Bicêtre, Le Kremlin-BIcêtre, France
12. Université Paris-Saclay, Université Paris-Sud, UVSQ, CESP, INSERM, Le Kremlin-BIcêtre, France

Mots clefs : test ADNlc, trisomie 21, AMP

Résumé :

Background
For several years, primary screening testing for Trisomy 21 using cell-free DNA (cfDNA) has been proposed, yet only few studies have assessed this method in a prospective manner. The issue is of particular relevance in women undergoing assisted reproduction technology (ART) for whom maternal serum screening (MSS) shows lower performance than for spontaneous pregnancies (SP), in addition to conflicting results as to the performance of cfDNA.

Methods and findings
A prospective, multicenter, interventional study was designed to address the real-life performance and impact of cfDNA compared to MSS in the first trimester, in singleton pregnancies achieved with or without ART. Each patient was offered both MSS and cfDNA testing during the first trimester, and pregnancy outcomes were recorded. The primary analysis cohort included 789 patients with spontaneous pregnancy (SP) (n=469) or ART-based pregnancy (n=320). The false positive rate and positive predictive value were 6.6% (95% confidence interval (CI), 5 to 8.6) and 8.8% (95% CI, 2.9 to 19.3) for MSS versus 0% (95% CI, 0 to 0.47) and 100% (95%CI, 59 to100%) for cfDNA, respectively. While no difference in cfDNA performance was observed between the SP and ART groups, MSS false positive rates and positive predictive values were less favorable in the ART (11.7% (95% CI, 8.4 to 15.7) and 2.6% (95% CI, 0.07 to 13.8) versus SP (3.2% (95% CI, 1.8 to 5.3) and 21.1% (6.1 to 45.6) group.

Conclusions
First line cfDNA shows better performance than MSS for both SP and ART, thus decreasing the number of invasive procedures. Our findings suggest that cfDNA should be considered the primary screening option, especially in ART-based pregnancies. (Funded by AP-HP, Laboratoire Cerba, Agence de la Biomédecine, Mutuelle Interiale. ClinicalTrials.gov number, NCT02424474)

CO041 : Aspect phénotypiques et génotypiques d'une cohorte de 453 fœtus atteints de ciliopathies : 20 ans d'étude

Auteurs :

Constance Wells (1, 2), Lucile Boutaud (3, 4), Nadia El Khartourfi (3), Valérie Cormier-Daire (5, 4), Joelle Roume (6), Amale Ichkou (3), Michel Vekemans (3, 4), Sophie Saunier (4), Féréchté Razavi (3, 4), Sophie Thomas (3), Tania Attié-Bitach (3, 4)

1. Département de Génétique Médicale, Maladies Rares et Médecine Personnalisée, CHU de Montpellier, Montpellier, France
2. Unité de Foetopathologie, CHU de Montpellier, Montpellier, France
3. Unité d'Embryofoetopathologie, Service d'Histologie-Embryologie-Cytogénétique, Necker Enfants Malades, Paris, France
4. INSERM U-1163, Institut Imagine, Necker Enfants Malades, Paris, France
5. Institut Imagine, Centre de Référence Maladies Osseuses Constitutionnelles, Necker Enfants Malades, Paris, France
6. Unité de Génétique Médicale, Centre Hospitalier Intercommunal Poissy, Saint Germain en Laye, France

Mots clefs : Ciliopathie anténatale, Syndrome de Meckel, Syndrome de Joubert, Syndrome de Bardet-Biedl, Syndrome côtes courtes-polydactylie, Séquençage haut débit (NGS)

Résumé :

Des mutations dans les gènes codants pour les protéines assurant la structure et le fonctionnement du cil primaire sont responsables d'un groupe de pathologies appelé « ciliopathie » dont certaines s'expriment en anténatal.
L'analyse moléculaire des gènes responsables de ciliopathies a successivement été réalisée par séquençage Sanger, puis séquençage de panels de gènes (« ciliome ») ou de l'exome chez des fœtus ou nouveau-nés décédés en période néonatale ayant un phénotype évoquant une ciliopathie. Le phénotype de 453 fœtus issus de 338 familles différentes a été recueilli grâce au compte-rendu clinique et/ou fœtopathologique.
Parmi les fœtus ayant eu une analyse moléculaire (393 cas), 298 ont un diagnostic moléculaire établi (75%). La majorité des fœtus sont atteints de syndrome de Meckel (MKS, n=307). Les autres ciliopathies fréquentes dans cette cohorte sont le syndrome de Bardet-Biedl (n=35), les ciliopathies squelettiques (n=29) ou non classées (n=26). Les gènes les plus fréquemment mutés dans cette cohorte sont *CEP290* (n=60), *CCD2A2* (n=44), *TMEM67* (n=40), *TMEM231* (n=17) et *MKS1* (n=14) responsables de syndrome de Meckel. Des corrélations phénotypes-génotypes se dégagent de cette étude. Les fœtus atteint de syndrome de Meckel mutés dans les gènes *MKS1, RPGRIP1L, TMEM216* ont les phénotypes les plus graves avec une moyenne d'âge gestationnel à l'IMG plus précoce (*MKS1* : 15,43SA et *RPGRIP1L* : 17,89SA). Les fœtus mutés *CEP290* et *TMEM67* ont moins d'anomalie de fermeture du tube neural (environ 65% des cas) et la polydactylie est beaucoup plus rare chez ces fœtus (présente dans respectivement 34,85% et 8,10%) par rapport aux fœtus mutés dans les autres gènes de MKS. Différentes versions du panel ciliome ont été successivement utilisées. Le rendement global est de 56%, plus élevé pour le panel diagnostique (66%) où l'analyse NGS est réalisée en première intention.
En conclusion, le séquençage du panel ciliome permet un diagnostic moléculaire dans la majorité des cas fœtaux, et est particulièrement intéressant dans les ciliopathies qui ont un chevauchement phénotypique important et une grande hétérogénéité génétique.

2018-01 Résumé Assises Ciliopathies C Wells.docx

CO042 : Diagnostic prénatal chromosomique versus dépistage non invasif de la trisomie 21 : une étude randomisée contrôlée multicentrique incluant 64 centres au niveau national

Auteurs :

Valérie Malan (1), Laurence Bussières (2), Norbert Winer (3), Jean-Philippe Jais (4), Amandine Baptiste (5), Marc Le Lorc'h (1), Caroline Elie (5), Neil O'Gorman (2), Nicolas Fries (6), Véronique Houfflin-Debarge (7), Loic Sentilhes (8, 9), Study group SAFE 21 (10), Michel Vekemans (1), Yves Ville (2), Laurent J Salomon (2)

1. Service de cytogénétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, APHP, Paris, Paris, France
2. Service d'Obstétrique, Hôpital Necker-Enfants Malades, APHP, Paris, Paris, France
3. Service d'Obstétrique, CHU de Nantes, Nantes, France
4. Service de Biostatistique et d'Information médicale, Hôpital Necker-Enfants Malades, APHP, Paris, Paris, France
5. Unité de Recherche Clinique, Hôpital Necker-Enfants Malades, APHP, Paris, Paris, France
6. Service d'Obstétrique, CHU de Montpellier, Montpellier, France
7. Service d'Obstétrique, CHU de Lille, Lille, France
8. Service d'Obstétrique, CHU d'Angers, Angers, France
9. Service d'Obstétrique, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France
10. SAFE 21, Assistance Publique - Hôpitaux de Paris, Paris, France

Mots clefs : Diagnostic prénatal, dépistage non invasif, trisomie 21, étude randomisée controlée multicentrique

Résumé :

Introduction
L'arrivée des tests ADN libre circulant de la trisomie 21 (ADNlcT21) a bouleversé la stratégie de dépistage des aneuploïdies en anténatal. Récemment, l'HAS a préconisé que ces tests soient proposés à toutes les femmes enceintes dont le niveau de risque de trisomie 21 fœtale est compris entre 1/1000 et 1/51 à l'issue du dépistage par le dosage des marqueurs sériques (dépistage combiné du 1er trimestre et plus rarement du deuxième trimestre). L'objectif principal est de limiter, outre l'anxiété maternelle, le nombre de gestes invasifs qui sont à l'origine d'un risque de perte fœtal estimé à environ 0.5-1%. Cependant, l'impact de cette stratégie n'a jamais été formellement évalué depuis sa mise en place.
Matériel et Méthodes
Il s'agit d'une étude randomisée contrôlée multicentrique incluant 64 centres au niveau national. Les patientes dont le risque estimé de trisomie 21 à l'issue du dépistage était compris entre 1/5 et 1/250 ont été sollicitées pour être randomisées en 2 bras : le groupe «dépistage non invasif de la trisomie 21 » (DPNI) a bénéficié d'un test ADNlcT21 et le groupe « diagnostic prénatal » (DPN) a bénéficié d'un prélèvement invasif (amniocentèse ou biopsie de trophoblaste). Le critère principal de jugement était le nombre de fausses couches avant 24 semaines d'aménorrhée. Ont été également évalués le taux de pertes fœtales (fausses couches et morts fœtales *in utero*), le nombre d'anomalies chromosomiques dans les deux groupes et la performance du test qui a été utilisé.
Résultats
2592 femmes étaient éligibles et 2111 ont été randomisées : 1034 patientes dans le groupe DPNI et 1017 dans le groupe DPN. Le taux de fausses couches était similaire dans les deux groupes : (8(0.8%) vs 8(0.8%), p= 0.47) ainsi que le taux de perte fœtales (17(1.7%) vs 17(1.7%), p= 0.46). Toutes les trisomies 21 ont été détectées par les deux méthodes (taux : 100% [87.2; 100]. Cependant, le nombre d'anomalies chromosomiques était significativement plus élevé dans le groupe DPN que dans le groupe DPNI (49(5%) vs 28(2.8%), p=0.01).
Discussion / Conclusion
La réalisation d'un geste invasif chez les femmes appartenant au groupe à risque accrue de trisomie 21 à l'issue du dépistage combiné du 1er trimestre n'engendre pas de sur-risque de perte fœtale. Par ailleurs, des anomalies chromosomiques autres que la trisomie 21 peuvent être détectées chez les patientes qui bénéficient d'un diagnostic prénatal chromosomique.

CO043 : Détection de l'instabilité microsatellitaire tumorale par NGS

Auteurs :

Agathe Ricou (1), Antoine Rousselin (1), Aurore Tranchant (1), Virginie Saguet (2), Cécile Blanc-Fournier (2), Florian Domin (1), Olivia Ferec (1), Raphael Leman (1, 3), David Pho (1), Nicolas Goardon (1, 3), Sophie Krieger (1, 3), Laurent Castéra (1, 3), Dominique Vaur (1, 3)

1. Laboratoire de Biologie et de Génétique du Cancer, CLCC François Baclesse, Caen, France
2. Service de Pathologie, CLCC François Baclesse, Caen, France
3. Inserm U1245-Centre Normand de Génomique Médicale et Médecine Personnalisée, Université de Rouen, Rouen, France

Mots clefs : Instabilité microsatellitaire, MSI, NGS, cancérologie, immunothérapie, théranostique

Résumé :

L'instabilité microsatellitaire tumorale évoque une déficience du système MMR (*MisMatch Repair*) et représente un élément d'orientation à la recherche d'une prédisposition génétique au syndrome de Lynch. Elle peut également constituer un facteur prédictif de réponse à la chimiothérapie et un facteur pronostique. Le statut MSI (*MicroSatellite Instability*) est classiquement déterminé par biologie moléculaire et associé à l'immunohistochimie dans la mise en évidence des défauts de réparation de l'ADN par la voie MMR. Les techniques de séquençage à haut débit étant désormais largement utilisées au sein des laboratoires de biologie moléculaire, nous avons validé la détection de l'instabilité microsatellitaire par NGS (*Next-Generation Sequencing*).

Nous avons analysé une série de plus de 1000 échantillons d'ADN extraits de tissus tumoraux colorectaux ou ovariens fixés et inclus en paraffine, dans un contexte théranostique. Après séquençage d'un panel de gènes par capture, l'instabilité a été étudiée par l'outil MSIsensor, évaluant le nombre de répétitions nucléotidiques. Ce dernier permet d'utiliser comme référence un ensemble d'échantillons tumoraux stables, afin de s'affranchir du tissu non tumoral, souvent indisponible. Pour valider cette approche, nous avons comparé certains résultats à ceux de l'analyse par PCR multiplexe de microsatellites et à ceux de l'étude immunohistochimique des protéines MLH1, MSH2, MSH6, PMS2.

L'analyse de notre panel détecte jusqu'à 36 loci microsatellitaires. Nous observons une excellente sensibilité et spécificité puisqu'elles sont supérieures à 95%. Cet outil s'avère donc très performant pour les tumeurs colorectales et ovariennes.

Nous avons donc validé ce test pour le diagnostic moléculaire qui, réalisé à partir de données NGS d'un panel de gènes, a l'avantage de permettre le pré-criblage des tumeurs instables simultanément à la recherche de mutation d'une tumeur. Or, le statut MSI représente un biomarqueur potentiel permettant de distinguer les patients susceptibles de répondre aux inhibiteurs de point de contrôle immunitaire (anti-PD1/PDL1…). Devant l'essor de l'immunothérapie avec l'élargissement des indications du test MSI à usage théranostique, cette analyse s'intègre pleinement dans le contexte de médecine de précision et pourrait devenir un élément commun du typage des tumeurs.

abstract_assises_MSIsensor.docx

CO044 : Mise en évidence de mutations de novo à l'état de mosaïque chez des patients atteints de Syndrome de Lynch-like avec transmission à la descendance.

Auteurs :

Erell Guillerm (1), Hélène Delhomelle (2), Mathilde Warcoin (1), Mélanie Cormier (1), Aurélien Palmyre (1), Isabelle Sourrouille (3), Magali Svrcek (4), Armelle Bardier (5), Nicolas Janin (6), Mélanie Eyries (1), Veronica Cusin (1), Florent Soubrier (1), Florence Coulet (1), Chrystelle Colas (1, 2)

1. Département de génétique, Hôpital Pitié Salpêtrière, APHP, Paris, France
2. Consultation d'oncogénétique, Hôpital Saint Antoine, APHP, Paris, France
3. Chirurgie digestive, Hôpital Saint Antoine, APHP, Paris, France
4. Anatomopathologie, Hôpital Saint Antoine, APHP, Paris, France
5. Anatomopathologie, Hôpital Pitié Salpêtrière, APHP, Paris, France
6. Département de génétique humaine, Cliniques universitaires Saint luc, Louvain, Belgique

Mots clefs : Lynch, Lynch-like, mosaïque, mutation de novo, syndrome de Lynch, cancer colorectal

Résumé :

Le syndrome de Lynch-like est défini par la présence chez un patient de tumeurs colorectales MSI sans mutation constitutionnelle identifiée dans les gènes MMR, ni méthylation somatique du promoteur du gène *MLH1*. Il s'agit de situations hétérogènes avec des mécanismes moléculaires sous-jacents multiples. L'identification du type de mécanisme responsable de ces tumeurs pour chacun des patients est cruciale pour guider la prise en charge du patient lui-même et de ses proches. En effet, l'absence de mutation identifiée rend impossible la réalisation d'un test génétique ciblé chez les apparentés et tous sont donc surveillés selon les recommandations établies pour le syndrome de Lynch. La présence de doubles mutations acquises au niveau tumoral est l'explication la plus fréquemment retrouvée. Il s'agit alors de tumeurs sporadiques et la surveillance pour le patient et sa famille peut être allégée.
Nous avons étudié les tumeurs de 28 patients atteints de syndrome de Lynch-like. L'analyse moléculaire des gènes *MMR* dans leur tumeur a révélé 8 événements somatiques bialléliques. Quatorze tumeurs n'avaient qu'un seul événement somatique détecté et 6 n'en avaient aucun. Toutes les mutations somatiques ont été recherchées dans des tissus adjacents normaux et/ou chez les enfants lorsqu'ils étaient accessibles. Nous avons identifié deux cas de mutation en mosaïque de *MSH2* avec transmission aux enfants. Pour le premier cas, la patiente avait développé deux tumeurs du spectre de Lynch (colon et endomètre) et la mutation trouvée dans la tumeur était visible dans l'ADN lymphocytaire mais à un taux de 9%, en dessous du seuil de détection du logiciel d'analyse. Pour le second cas, la mutation trouvée dans la tumeur n'était pas visible en séquençage Sanger dans l'ADN lymphocytaire alors qu'elle a été transmise au fils de la patiente.
Pour les patients Lynch-like encore inexpliqués, d'autres analyses doivent être discutées (analyses ARN, étude d'autres gènes…).
Cette étude confirme que les mutations *de novo* à l'état mosaïque existent dans le syndrome de Lynch et peuvent expliquer certains syndromes de Lynch-like. La possibilité de transmission de cette mutation aux enfants modifie fortement le conseil génétique et permet de recommander une prise en charge appropriée dans ces familles. En effet, une surveillance intensive doit être maintenue pour le patient et les enfants portant la mutation. L'absence de mutation chez les autres enfants permet d'arrêter la surveillance, ainsi que pour les frères et sœurs qui ne sont pas à risque.
Nous proposons un algorithme pour l'exploration des patients Lynch-like qui intègre l'analyse tumorale et permet de détecter les mosaïques. L'analyse NGS en forte profondeur permettra de détecter des mutations faiblement représentées (fréquence allélique faible (<10%). D'autres études sont nécessaires pour déterminer la fréquence de ce type d'événements et leur implication éventuelle dans d'autres prédispositions au cancer.

CO045 : Contribution des mutations de novo et en mosaïque du gène TP53 au syndrome de Li-Fraumeni

Auteurs :

Gaëlle BOUGEARD (1), Mariette RENAUX-PETEL (1, 2), Françoise CHARBONNIER (1), Jean-Christophe THERY (1, 3), Pierre FERMEY (1), Gwendoline LIENARD (1), Jacqueline BOU (1), Sophie COUTANT (1), Myriam VEZAIN (1), Edwige KASPER (1), Steeve FOURNEAUX (1), Sandrine MANASE (1), Maud BLANLUET (1), Bruno LEHEUP (4), Ludovic MANSUY (5), Jacqueline CHAMPIGNEULLE (6), Céline CHAPPE (7), Michel LONGY (8), Nicolas SEVENET (8), Brigitte BRESSAC-DE PAILLERETS (9), Léa GUERRINI-ROUSSEAU (10), Laurence BRUGIERES (10), Olivier CARON (11), Jean-Christophe SABOURIN (1, 12), Isabelle TOURNIER (1), Stéphanie BAERT-DESURMONT (1), Thierry FREBOURG (1)

1. Inserm U1245, UNIROUEN, Normandie Univ, et Département de Génétique, CHU de Rouen, Centre Normand de Génomique et de Médecine Personnalisée, ROUEN, France
2. Département de Chirurgie Pédiatrique, CHU de Rouen, ROUEN, France
3. Département d'Oncologie Médicale, CRLCC Henri Becquerel, ROUEN, France
4. Département de Génétique Clinique, CHU de Nancy, NANCY, France
5. Département d'Oncologie Pédiatrique, CHU de Nancy, NANCY, France
6. Département d'Anatomie et Cytologie Pathologiques, CHU de Nancy, NANCY, France
7. Département d'Oncologie Pédiatrique, CHU de Rennes, RENNES, France
8. Département d'Oncogénétique, CRLCC Institut Bergonié, BORDEAUX, France
9. Gustave Roussy, Université Paris-Saclay, Département de Biologie Médicale et Pathologie, et Inserm U1186, Gustave Roussy Cancer Campus, VILLEJUIF, France
10. Département Cancérologie de l'Enfant et de l'Adolescent, Gustave Roussy Cancer Campus, VILLEJUIF, France
11. Départment d'Oncologie, Gustave Roussy Cancer Campus, VILLEJUIF, France
12. Département d'Anatomie et Cytologie Pathologiques, CHU de Rouen, ROUEN, France

Mots clefs : mutation de novo, mosaïque, syndrome de Li-Fraumeni, TP53, NGS

Résumé :

Le développement de certaines tumeurs, telles que les corticosurrénalomes (ACC), les tumeurs des plexus choroïdes (CPT), les cancers du sein de la femme de moins de 31 ans ou encore les cancers primitifs multiples appartenant au spectre du syndrome de Li-Fraumeni (LFS) est, indépendamment du contexte familial, un élément fortement évocateur d'une altération constitutionnelle du gène suppresseur de tumeurs *TP53*, suggérant la contribution significative de mutations *de novo* au LFS. L'objectif de la présente étude était donc de déterminer la contribution des mutations *de novo* et des mutations en mosaïque au LFS. Au sein de la série LFS française incluant 328 cas index non apparentés porteurs d'une altération constitutionnelle de *TP53*, identifiée par séquençage Sanger ou QMPSF, nous avons dans un premier temps déterminé que cette altération est survenue *de novo* dans 40 cas. Nous n'avons détecté aucun effet de l'âge parental. Grâce à la lecture attentive des électrophérogrammes, le séquençage Sanger a révélé 2 mutations en mosaïque : (i) chez un enfant ayant développé un ACC à 4 mois et (ii) chez le père, asymptomatique, d'une enfant ayant développé un médulloblastome à 3 ans. La reprise systématique des analyses de *TP53*, chez 108 patients évocateurs d'un LFS sans mutation détectable par Sanger et QMPSF, réalisée par NGS à forte profondeur (> 500X) après capture ciblée, à partir de l'ADN génomique sanguin, nous a permis d'identifier 6 cas supplémentaires de mutations de *TP53* en mosaïque : chez 2/49 enfants avec un ACC (à 8 mois et 1 an), 2/21 enfants avec un CPT (à 6 mois et 2 ans), 1/31 femmes avec cancer du sein avant 31 ans (cancer du sein bilatéral à 27 et 34 ans) et chez une patiente ayant développé 3 tumeurs (un ostéosarcome à 12 ans, un carcinome mammaire et un sarcome mammaire controlatéral à 35 ans). Cette étude, réalisée sur une grande série de porteurs de mutation de *TP53*, permet d'estimer aujourd'hui la contribution des mutations *de novo* à au moins 14 % (48/336) et suggère qu'approximativement 1/5 de ces mutations *de novo* seraient apparues au cours du développement embryonnaire. L'identification de ces mutations en mosaïque est essentielle, à la fois pour les patients qui doivent bénéficier d'un suivi selon les recommandations de prise en charge des patients LFS, mais aussi pour le conseil génétique, en rassurant parents et fratrie. La présence d'une mutation en mosaïque de *TP53* doit donc être envisagée dans les cancers sporadiques très évocateurs, tels que les ACC, les CPT, les cancers du sein de la femme de moins de 31 ans, ou encore les cancers primitifs multiples appartenant au spectre du LFS et les laboratoires en charge de l'analyse moléculaire de *TP53* doivent assurer la détection des mosaïques.

CO046 : Caractéristiques morphologiques et génomiques des tumeurs du sein chez les porteurs d'une mutation dans le gène ATM

Auteurs :

Anne-Laure Renault (1), Noura Mebirouk (1), Laetitia Fuhrmann (2), Guillaume Bataillon (2), Eve Cavaciuti (1), Dorothée Le Gal (1), Elodie Girard (3), Tatiana Popova (4), Philippe La Rosa (1), Juana Beauvallet (1), Séverine Eon-Marchais (1), Marie-Gabrielle Dondon (1), Catherine Dubois d'Enghien (5), Anthony Laugé (5), Walid Chemlali (6), Martine Labbé (1), Ivan Bièche (6), Sylvain Baulande (7), Jacques-Olivier Bay (8), Pascaline Berthet (9), Olivier Caron (10), Bruno Buecher (5), Laurence Faivre (11, 12), Marc Fresnay (13), Marion Gauthier-Villars (5), Paul Gesta (14), Nicolas Janin (15), Sophie Lejeune (16), Christine Maugard M. (17, 18), Sébastien Moutton (19), Laurence Venat-Bouvet (20), Hélène Zattara (21), Jean-Pierre Fricker (22), Laurence Gladieff (23), Isabelle Coupier (24, 25), . COF-AT (1), . GENESIS (1), . kConFab (26, 27), Georgia Chenevix-Trench (28), Janet Hall (29), Anne Vincent-Salomon (2), Dominique Stoppa-Lyonnet (5, 30), Nadine Andrieu (31), Fabienne Lesueur (31)

1. INSERM U900, PSL Research University, Institut Curie, Mines ParisTech, Paris, France
2. Département de pathologie, Institut Curie, Paris, France
3. INSERM U900, PSL Research University, Institut Curie, Mines ParisTech, Paris, Paris, France
4. INSERM, U830, Paris Descartes, Paris, France
5. Service de Génétique, Institut Curie, Paris, France
6. Unité de Pharmacogénomique, Institut Curie, Paris, France
7. Institut Curie Genomics of Excellence (ICGex) Platform, Institut Curie, Paris, France
8. Service d'oncologie médicale, CHU Clermont-ferrand, site Estaing, Clermont-Ferrand, France
9. Unité de pathologie gynécologique, Centre François Baclesse, Caen, France
10. Service d'Oncologie génétique, Gustave Roussy, Villejuif, France
11. Institut GIMI, CHU de Dijon, Hôpital d'Enfants, Dijon, France
12. Oncogénétique, Centre de Lutte contre le Cancer Georges François Leclerc, Dijon, France
13. Département d'Hématologie et d'Oncologie Médicale, CLCC Antoine Lacassagne, Nice, France
14. Service d'Oncogénétique pour la consultation oncogénétique régionale Poitou-Charentes, Centre Hospitalier Georges-Renon, Niort, France
15. Service de génétique, Cliniques Universitaires St-Luc, Bruxelles, Belgique
16. Service de génétique clinique Guy Fontaine, Hôpital Jeanne de Flandre, Lille, France
17. UF1422 Oncogénétique moléculaire, Laboratoire d'Oncobiologie, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
18. UF6948 Oncogénétique Evaluation familiale et suivi, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Starsbourg, France
19. Laboratoire Maladies Rares : Génétique et Métabolisme, CHU de Bordeaux-GH Pellegrin, Bordeaux, France
20. Service d'Oncologie Médicale, Hôpital Universitaire Dupuytren, Limoges, France
21. Département de génétique, Hôpital de la Timone, Marseille, France
22. Unité d'Oncologie, Centre Paul Strauss, Strasbourg, France
23. Institut Claudius Regaud, IUCT-Oncopole, Toulouse, France
24. Service de Génétique médicale et Oncogénétique, Hôpital Arnaud de Villeneuve, CHU Montpellier, Montpellier, France
25. Unité d'Oncogénétique, ICM Val d'Aurelle, Montpellier, France
26. Research DepartmentPeter , Peter MacCallum Cancer Centre, Melbourne, Australie
27. The Sir Peter MacCallum Department of Oncology , University of Melbourne, Parkville, Australie
28. Department of Genetics and Computational Biology, QIMR Berghofer Medical Research Institute, Brisbane, Australie
29. UMR INSERM 1052, CNRS 5286, Centre de Recherche en Cancérologie de Lyon, Lyon, France
30. INSERM, U830, Institut Curie, Paris, France
31. INSERM U900, PSL Research University, Institut Curie, Paris, France

Mots clefs : ATM, tumeurs du sein, instabilité génétique, puce OncoScan, CNV, perte d'hétérozygotie.

Résumé :

Des altérations 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 un syndrome neurodégénératif, un déficit immunitaire et des télangiectasies oculo-cutanées. Les sujets atteints d'A-T ont également une radiosensibilité accrue et un risque élevé de développer des cancers. Les femmes apparentées à un enfant atteint d'A-T et porteuses d'une seule copie mutée d'*ATM* (HetAT) ont un risque 2 à 3 fois plus élevé de cancer du sein que les femmes de la population générale. De plus, des variants entrainant la perte de fonction d'*ATM* sont mis en évidence dans environ 3% des familles à haut risque de cancer du sein vues en consultation d'oncogénétique. L'estimation des risques absolus de cancer pour les sujets HetAT étant encore imprécise, des recommandations claires concernant le suivi de ces patients et de leur famille n'ont pas pu être établies. Les caractéristiques morphologiques et moléculaires des tumeurs du sein des sujets HetAT ont été très peu décrites dans la littérature. Nous avons émis l'hypothèse que la présence d'une signature tumorale spécifique des sujets HetAT pourrait

permettre d'identifier parmi les cas dits « sporadiques » des porteurs d'un variant délétère d'*ATM* et pourrait avoir des implications importantes pour le suivi et le traitement de ces patients.
Nous avons comparé les caractéristiques morphologiques de 41 tumeurs du sein de porteurs d'une ou deux copies mutées d'*ATM* à celles d'une série tumeurs du sein de 599 patients suivis à l'Institut Curie. La distribution des sous-types moléculaires dans la série de tumeurs *ATM* a également été comparée à celle des tumeurs du sein du Cancer Genome Atlas de sujets non-porteurs d'une mutation dans les gènes *BRCA1*, *BRCA2 et ATM.* Au niveau moléculaire, nous avons analysé les variations du nombre de copies (CNVs) sur l'ensemble du génome pour 23 de ces tumeurs à partir des données obtenues avec la puce OncoScan (Affymetrix).
Nos résultats montrent que les tumeurs du sein *ATM* sont majoritairement de sous-type moléculaire luminal B, sont tétraploïdes et présentent dans 67% des cas une perte d'hétérozygotie (LOH) au niveau du locus 11q22-23 contenant le gène *ATM*. De plus, 70% des tumeurs *ATM* présentent des CNVs spécifiques de type perte/LOH au niveau des loci 13q14.11-q14.3, 21p11.2-p11.1 et 22q11.23. Les tumeurs *ATM* ne ressemblent donc pas aux tumeurs développées par les porteurs d'une mutation dans le gène *BRCA1* qui sont majoritairement des tumeurs n'exprimant pas les récepteurs hormonaux. Au niveau moléculaire, les tumeurs *ATM* ne présentent pas de pertes de fragments chromosomiques de grande taille caractéristiques des tumeurs *BRCA1* ; chez les sujets HetAT, la sensibilité des tumeurs aux molécules majorant l'anomalie de réparation des cassures double-brin de l'ADN par recombinaison homologue (inhibiteurs PARP, agents alkylants) restent donc à démontrer.

Assises_ATM_2018.docx

CO047 : Analyse pan-génomique en SNP-array sur échantillons fixés au formol et inclus en paraffine pour l'identification de marqueurs pronostiques dans le lymphome à cellules du manteau, un résultat du projet LyMA-génomique conduit par le LYSA

Auteurs :

Yannick Le Bris (1, 2), Florence Magrangeas (2), Olivier Hermine (3), David Chiron (2), Danielle Canioni (4), Anne Moreau (5), Marie C Béné (1), Loïc Campion (6), Stéphane Minvielle (2), Steven Le Gouill (7, 2)

1. Hématologie Biologique, CHU de Nantes, Nantes, France
2. CRCNA, UMR1232, INSERM, Nantes, France
3. Hématologie Clinique, CHU Necker, Paris, France
4. Anatomocytopathologie, CHU Necker, Paris, France
5. Anatomocytopathologie, CHU de Nantes, Nantes, France
6. , ICO, Nantes, France
7. Hématologie Clinique, CHU de Nantes, Nantes, France

Mots clefs : SNP array, lymphome à cellule du manteau, CNV, FFPE

Résumé :

Introduction
Des marqueurs pronostiques disponibles au diagnostic sont nécessaires pour distinguer les patients présentant un lymphome à cellules du manteau (LCM) de haut risque (HR) ou de faible risque (FR). Ce travail rapporte les résultats d'une évaluation pan-génomique de haute résolution des anomalies du nombre de copies (ANC) et leur impact sur la réponse au traitement dans le cadre de l'essai clinique LyMa.
Patients, matériels et méthodes
L'étude a été réalisée chez 96 patients traités dans l'essai LyMa évaluant l'impact du rituximab en maintenance après chimiothérapie de type DHAP (dexaméthasone, aracytine, sel de platine) puis autogreffe de cellules souches hématopoïétiques. La cohorte incluait 9 patients de HR avec une maladie réfractaire ou en rechute dans l'année suivant le diagnostic et 87 patients encore en réponse à 1 an du diagnostic dont 64 patients de FR toujours en rémission plus de 30 mois après le diagnostic. Le profil pan-génomique des ANC et les mutations les plus fréquentes de *TP53* ont été analysées sur 50ng d'ADN FFPE avec la technique de SNP array Oncoscan® FFPE. Les données ont été analysées avec l'algorithme TuScan et les régions minimales récurrentes ont été identifiées avec l'algorithme Gistic.
Résultats
Soixante-huit régions altérées de façon récurrente ont été retrouvées et concernaient 98% des patients. Les délétions étaient plus fréquentes que les amplifications avec une médiane par patient de 9 (0-28) vs 3 (0-37) ($p < 0,001$) respectivement. Les ANC récurrentes incluaient des pertes en 1p21, 11q22 (*ATM*), 13q14, 9p21 (*CDKN2A/CDKN2B*), 13q14 (*RB1*), 9q22-31, 13q33-34, 8p11, 17p13 (*TP53*) et des gains en 3q26-27, 3q21, 11q13 (*CCND1*), 13q31, 7p22, 10p12 (*BMI1*), 8q24 (*MYC*) et 12q13 (*CDK4*).
Des mutations *TP53* ont été détectées chez 5 patients incluant deux cas avec une délétion 17p13, avec un enrichissement chez les patients de HR. Les délétions de *TP53* (44% vs 14%; p=0.04), *CDKN2A* (55% vs 22%; p=0.004) et 8p11 (44% vs 15%; p=0.004) étaient significativement plus fréquentes chez les patients HR. Le locus du gène *CDK4* (22% vs 6%; p=0.1) et la région 13q31 (33% vs 9%; p=0.06) incluant le locus *miR-17-92* étaient plus fréquemment amplifiés chez les patients HR. A l'inverse, l'amplification du locus 7p, incluant notamment le gène C*ARD11,* était associée aux patients de FR (16% vs 0%; p=0.03).
Conclusion
Ce travail confirme le mauvais pronostic des patients atteints de LCM présentant une délétion ou une mutation de *TP53* et/ou une délétion des gènes *CDKN2A* et *CDKN2B*. Elle montre aussi l'impact de mauvais pronostic de nouvelles ANC telles que les délétions en 8p et les amplifications du locus *mir 17-92*. A l'inverse, les amplifications 7p semblent associées à un bon pronostic. Ces données fournissent de nouveaux éléments pronostiques et théranostiques pour le choix des thérapies futures dans le LCM.

CO048 : Caractérisation moléculaire et fonctionnelle des mutations somatiques du gène NF1 dans les carcinomes bronchiques non à petites cellules

Auteurs :

Camille Tlemsani (1, 2), Nicolas Pécuchet (3), Aurelia Gruber (1), Audrey Mansuet-Lupo (4), Diane Damotte (4), Marco Alifano (5), Jennifer Varin (1), Ingrid Laurendeau (1), Armelle Luscan (1, 2), Béatrice Parfait (1, 2), Ivan Bièche (1), Audrey Briand (1, 2), Benoit Terris (4), Helene Blons (3, 6), Karen Leroy (2), Dominique Vidaud (1, 2), Michel Vidaud (1, 2), Pierre Laurent-Puig (3, 6), Eric Pasmant (1, 2)

1. EA7331, Université Paris Descartes, Paris, France
2. Génétique et Biologie Moléculaires, Hôpital Cochin, Paris, France
3. INSERM UMR-S1147, Université Sorbonne-Paris-Cité, Paris, France
4. Service de Pathologie, Hôpital Cochin, Paris, France
5. Service de Chirurgie Thoracique, Hôpital Cochin, Paris, France
6. Service de Biochimie, Pharmacologie et Biologie Moléculaire, Hôpital Européen Georges Pompidou (HEGP), Paris, France

Mots clefs : NF1, carcinome bronchique non à petites cellules, CRISPR/CAS9

Résumé :

La neurofibromine, produit du gène *NF1* agit comme un inhibiteur de la voie RAS-MAPK (*Mitogen-activated protein kinases*), voie majeure de la cancérogénèse. Le gène *NF1* est donc un gène suppresseur de tumeurs. Des mutations constitutionnelles de *NF1* causent la neurofibromatose de type 1 (NF1 ; MIM#162200). Cette maladie rare héréditaire prédispose notamment au développement de tumeurs des gaines nerveuses. Des mutations somatiques de *NF1* ont par ailleurs été décrites dans des cancers sporadiques, hors contexte de maladie héréditaire. L'implication de la voie RAS-MAPK dans les cancers bronchiques non à petites cellules (CBNPC) est bien caractérisée avec la mise en évidence de mutations somatiques activatrices spécifiques de la voie, notamment des oncogènes *EGFR, KRAS* et *BRAF.* Cependant, l'implication du gène *NF1* a été peu étudiée dans les CBNPC.
Nous avons confirmé l'implication de *NF1* dans le développement des CBNPC par une approche ciblée de NGS (*Next Generation Sequencing*) sur une cohorte de 138 échantillons tumoraux : 36 altérations somatiques (26%) de *NF1* ont été retrouvées dont 25 mutations ponctuelles (parmi lesquelles 4 homozygotes) et 11 délétions. Ces altérations étaient majoritairement exclusives de mutations affectant d'autres effecteurs de la voie RAS-MAPK. Il était retrouvé un nombre plus important d'altérations de *NF1* dans les échantillons de patients ayant reçu une chimiothérapie. Une corrélation génotype-phénotype a pu être établie : il s'agissait en majorité d'hommes (72%), fumeurs (75%) avec une survie sans progression et une survie globale significativement meilleures que les patients *KRAS* mutés.
Afin de déterminer les conséquences fonctionnelles des altérations de *NF1*, nous avons établi des modèles cellulaires mutés *NF1* grâce au système d'édition du génome CRISPR/CAS9. Trois lignées ont été sélectionnées : deux lignées de CBNPC (A549 et NCI H-1703) et une lignée immortalisée de cellules bronchiques épithéliales diploïdes (HBE4-E6/E7-C1). Nous avons évalué les conséquences de l'inactivation mono- ou bi-allélique (par CRISPR/CAS9 et *Nickase*) de *NF1*. Un *western blot* a confirmé la perte d'expression partielle ou complète de la neurofibromine en cas respectivement de mutations mono- ou bi-alléliques du gène *NF1*. Les conséquences fonctionnelles seront évaluées par analyse des transcriptomes différentiels. Des approches pharmacologiques permettront de tester le caractère prédictif de sensibilité aux inhibiteurs de MEK des mutations du gène *NF1* au sein de nos modèles cellulaires isogéniques.
Notre étude montre que les CBNPC présentant des altérations somatiques de *NF1* constituent une entité clinique et pronostique distincte. L'étude de nos modèles cellulaires permettra (1) d'évaluer l'influence du caractère mono- ou bi-allélique des altérations de *NF1* sur les conséquences fonctionnelles et (2) de tester de nouvelles perspectives thérapeutiques qu'il conviendra de confirmer *in vivo* sur des modèles pré-cliniques.

Tlemsani_Abstract Assises de Genetique.pdf

CO049 : Nouvelles recommandations pour la prédiction des variants d'épissage à partir d'études combinées in silico/in vitro de 395 variants : un effort collaboratif international

Auteurs :

Sophie Krieger (1, 2), Raphaël LEMAN (1, 2), Pascaline Gaildrat (2), Gérald Le Gac (3), Chadran Ka (3), Yann Fichou (3), Marie-Pierre Audrezet (3), Virgiginie Caux-Moncoutier (4), Sandrine Caputo (4), Nadia Boutry-Kryza (5), Sylvie Mazoyer (5), Mélanie Leone (5), Françoise Bonnet-Dorion (6), Marine Guillaud-Bataille (7), Etienne Rouleau (7), Brigitte Bressac de Paillerets (7), Nicolas Sevenet (8), Barbara Wappenshmidt (9), Thomas van Overeem Hansen (10), Danielle Muller (11), Violaine Bourdon (12), Françoise Revillon (13), Michael T. Parsons (14), Emma Tudini (14), Antoine Rousselin (1, 15), Grégoire Davy (1, 15), Gaia Castelain (15), Laurent Castera (1, 15), Joanna Sokolowska (16), Florence Coulet (17), Capucine Delnatte (18), Claude Ferec (3), Amanda Spurdle (14), Alexandra Martins (15), Claude Houdayer (19)

1. LBGC, Centre François Baclesse, CAEN CEDEX 5, France
2. UNIROUEN, INSERM UMR1245, Genomics and Personalized Medecine in Cancer and Neurological Disorders, Rouen, France
3. INSERM UMR1078, Genetics, Functional Genomics and Biotechnology, UBO (Université de Bretagne Occidentale), Brest, France
4. Institut Curie , INSERM U830, Paris, France
5. Centre Léon Bérard, Unité Mixte de Génétique Constitutionnelle des Cancers Fréquents, Lyon, France
6. Institut Bergonié, INSERM U916, Département de Pathologie, Laboratoire de Génétique Constitutionnelle, Bordeaux, France
7. Département de Biopathologie,Gustave Roussy, Université Paris-Saclay, Villejuif, France
8. INSERM U1218, Institut Bergonié, Bordeaux, France
9. Division of Molecular Gynaeco-Oncology, Department of Gynaecology and Obstetrics, University Hospital of Cologne, Cologne, Allemagne
10. Centre for Genomic Medicine, Rigshospitalet, University of Copenhagen, Copenhagen, Danemark
11. Laboratoire d'Oncogénétique, Centre Paul Strauss, Strasbourg, France
12. Laboratoire d'Oncogénétique Moléculaire, Institut Paoli-Calmettes, Marseilles, France
13. Laboratoire d'Oncogénétique Moléculaire Humaine, Centre Oscar Lambret, Lille, France
14. Department of Genetics and Computational Biology, QIMR Berghofer Medical Research Institute, Queensland, Australie
15. INSERM UMR1245, UNIROUEN, Normandie Université, Genomics and Personalized Medecine in Cancer and Neurological Disorders, UNIROUEN, Rouen, France
16. service de Génétique, CHU Nancy, Nancy, France
17. Service de génétique, Hôpital Pitié Salpétrière, AP-HP, Paris, France
18. Laboratoire de génétique moléculaire, CHU Nantes, Nantes, France
19. Service de Génétique et INSERM U830, Institut Curie , Paris, France

Résumé :

L'interprétation des variants nucléotidiques est désormais l'enjeu majeur en Génétique. Les variants d'épissage en sont le paradigme. En effet chaque variant nucléotidique peut être pathogène par la création/rupture de séquences consensus d'épissage. Etant donné qu'il est impossible de réaliser une étude de transcrits pour chaque variant, les prédictions *in silico* de l'impact potentiel des variants sur l'épissage sont d'un intérêt majeur. Grâce à un effort collaboratif international du groupe français UNICANCER Genetic Group (UGG), de l'UMR1078 et du consortium ENIGMA (https://enigmaconsortium.org/) , les données *in silico* et *in vitro* de l'impact sur l'épissage de 395 variants *BRCA1, BRCA2, CFTR et RHD* situés dans les régions consensus 5' et 3' (respectivement définies par les 11 et 14 bases entourant la jonction intron/exon) ont été collectées afin de créer un nouvel outil de prédiction des anomalies d'épissage surpassant les précédentes recommandations de l'UGG [Hum Mutat 33:1228-38, 2012].
Parmi les 305 variants *BRCA1* et *BRCA2*, 142 (dont 39 non publiés), ont été utilisés pour entraîner ce nouvel outil prédictif nommé SPiCE (*Splicing Prediction in Consensus Element*). Brièvement, SPiCE est un outil basé sur la régression logistique qui utilise les prédictions *in silico* des algorithmes MaxEntScan, SpliceSiteFinder-like et calcule, pour un variant donné, la probabilité d'altération de l'épissage et les seuils décisionnels optimaux.
Après cette étape d'entraînement, SPiCE a été évalué sur un ensemble de 163 variants supplémentaires de *BRCA1* et *BRCA2* précédemment publiés et sur 90 variants non publiés, principalement dans *CFTR* et *RHD*. Nous avons observé une sensibilité de 99,5 % (207/208) et une spécificité de 95,6 % (43/45). En d'autres termes, l'impact sur l'épissage a été correctement prédit pour 250/253 variants (98,8 %).
Nous proposons donc SPiCE comme un nouveau standard de prédiction des anomalies de l'épissage dans les séquences consensus. De nouveaux développements sont en cours afin de l'utiliser hors de ces séquences consensus. SPiCE peut être facilement implémenté dans un laboratoire de diagnostic ou de recherche comme outil décisionnel de routine afin d'aider biologistes et généticiens face au déluge de nouveaux variants à l'ère du séquençage à haut débit.

Resumé SPiCE assises génétiques Nantes_29_09_2017.docx_FINAL.docx

CO050 : La structure génétique de la Bretagne : frontières physiques et culturelles

Auteurs :

Christian Dina (1, 2), Joanna Giemza (1), Matilde Karakachoff (1, 2), Eric Charpentier (3), Karen Rouault (4), Aude Saint-Pierre (4), Floriane Simonet (1, 2), Simon Lecointe (2, 2), Pierre Lindenbaum (1), Claude Férec (4), Hervé Le Marec (1, 2), Stéphanie Chatel (1, 2), Jean-Jacques Schott (1, 2), Emmanuelle Génin (4), Richard Redon (3, 2)

1. , l'institut du thorax, INSERM, CNRS, UNIV Nantes, Nantes, France
2. , l'institut du thorax, CHU Nantes, Nantes, France
3. , l'institut du thorax, INSERM, CNRS, UNIV Nantes, Nantes, France, Nantes, France
4. , INSERM UMR 1078, CHRU Brest, UNIV Brest, Brest, France

Mots clefs : population, génétique, Bretagne, Ouest, isolement par distance, barrière

Résumé :

Contexte
La structure génétique des populations humaines varie à l'échelle mondiale, en fonction de migrations historiques, de mélanges de populations, de la sélection naturelle et du phénomène de dérive génétique. La caractérisation de cette structure et des variations génétiques qui la sous-tendent permet à la fois de reconstruire l'histoire démographique d'une population et de développer des tests d'association adéquats, et ce particulièrement pour les variations génétiques rares.
La Bretagne ayant constitué une unité administrative distincte sur une grande période, sa population présente encore aujourd'hui une architecture génétique particulière, caractérisée par une proximité génétique avec la population Irlandaise (Karakachoff et al. Eur J Hum Genet, 2015). Dans la présente étude, nous explorons à une échelle très fine la structure génétique des populations sédentaires de Bretagne et des régions voisines d'Anjou, Maine et Poitou.

Méthodes et résultats
Nous avons interrogé environ 800 000 marqueurs de type SNP/indel sur puces Affymetrix Axiom PMRA chez 1005 individus du Nord-Ouest de la France, dont les 4 grands-parents sont nés à proximité immédiate en Bretagne ou Pays de la Loire. Une analyse en composantes principales met en évidence une très forte corrélation entre le lieu de naissance et la valeur des composantes issues des marqueurs génétiques (p-value < 2e-16). La visualisation des valeurs de la 1ere composante (0.16% de la variance) sur une carte permet de différencier un sous-groupe d'individus nés au Sud de la Loire, et deux sous-groupes d'individus nés au nord de la Loire et répartis de part et d'autre d'une frontière assimilable à celle de la Bretagne historique. L'existence de telles barrières génétiques est confirmée formellement par un test partiel de Mantel. Les indices estimés Fst entre les trois groupes indique un effet plus important de la barrière de la Loire (Fst 6.10-4) par rapport à la barrière historique (Fst 3.10-4).

Conclusion
Nous avons mis en évidence une corrélation entre génétique et géographie à l'échelle régionale en Bretagne et Pays de la Loire. Cette structure présente en premier lieu une composante d'isolement par la distance. Simultanément, nous avons mis en évidence des barrières génétiques correspondant à une barrière géographique importante - la Loire - et à des barrières historiques/culturelles déterminées par les frontières du Duché de Bretagne. Ces résultats renforcent l'importance d'utiliser des groupes de témoins bien appariés lors d'analyses d'association génétique, et de constituer un panel de génomes de référence d'ascendance française.

BretagneGeneticsAsises2018.docx

CO051 : L'architecture fonctionelle des variants à faible fréquence dans les traits et maladies complexes

Auteurs :

Steven Gazal (1), Po-Ru Loh (1), Armin Schoech (1), Bryce van de Geijn (1), Shamil Sunyaev (2), Alexander Gusev (3), Ben Neale (4), Hilary Finucane (5), Alkes Price (1)

1. -, Harvard School of Public Health / Broad Institute, Boston, Etats-Unis
2. -, Harvard Medical School / Broad Institute, Boston, Etats-Unis
3. -, Harvard Medical School / Dana Farber, Boston, Etats-Unis
4. -, MGH / Broad Institute, Boston, Etats-Unis
5. -, Broad Institute, Boston, Etats-Unis

Mots clefs : Héritabilité, Sélection négative, Génome non-codant, Maladies complexes

Résumé :

Large-scale genome-wide association studies (GWAS) have highlighted that heritability explained by common variants is concentrated into non-coding functional annotations that are often cell-type or tissue-specific. However, little is known about non-coding variant effects in low-frequency architectures, or connecting functional enrichments to gene-set discovery strategies. To investigate these issues, we partitioned the heritability of both common and low-frequency (0.5% ≤ MAF < 5%) variants across a broad set of functional annotations in 27 independent diseases and complex traits from UK Biobank (average N=355K; BOLT-LMM, Loh et al. 2017 *biorxiv*). We accomplished this by extending stratified LD score regression (Finucane et al. 2015 Nat Genet, Gazal et al. 2017 Nat Genet) to low-frequency imputed variants, incorporating estimates of imputation accuracy and a UK10K reference panel (UK10K Consortium 2015 *Nature*).
We determined that non-synonymous variants explain 18% of low-frequency variant heritability (h_{lf}^2), compared to 2% of common variant heritability (h_c^2) (P = 7.8 x 10^{-45} for difference), with analogous differences for coding and UTRs variants (27% of h_{lf}^2 vs. 9% of h_c^2; P = 4.4 x 10^{-17}) and regions conserved in primates (46% of h_{lf}^2 vs. 21% of h_c^2; P = 8.5 x 10^{-18}). At the trait level, we also observed that Roadmap tissue-specific annotations (Kundaje et al. 2015 *Nature*) extremely enriched in h_c^2 tend to be similarly enriched in h_{lf}^2. These results highlight that low-frequency variant architectures are dominated by both non-synonymous and non-coding tissue-specific variants. Next, we performed forward simulations using SLiM2 (Haller and Messer 2017 MBE) to link these results to the action of negative selection, and to predict the distribution of rare (MAF < 0.5%) variant effect sizes. We showed that the h_c^2 enrichment of an annotation primarily depends on its proportion of sites under selection, whereas its h_{lf}^2 enrichment depends of the strength of selection.
Finally, we defined a strategy to create *disease-informative* gene set annotations, which restricts genes to their coding and regulatory elements (connected through Hi-C data) and uses conserved elements and transcription factor binding sites to make these elements more precise. We illustrate the benefits of this strategy on ExAC genes depleted for loss-of-function variants (Lek et al. 2016 *Nature*), for which gene bodies cover 12% of the genome and explain 24% of h_{lf}^2, whereas our corresponding *disease-informative* gene set annotation (which includes nearby regulatory regions) covers only 1.4% of the genome but explains 27% of h_{lf}^2.
In conclusion, our work provides a deeper understanding of the functional architecture of human complex traits, and guidelines to integrate non-coding variants in whole genome sequencing studies.

Abstract assises.docx

CO052 : Étude de la stratification de la population française à une échelle fine

Auteurs :

Aude Saint Pierre (1, 2), Joanna Giemza (3, 4), Matilde Karakachoff (3, 4), Céline Bellenguez (5, 6), Luc Letenneur (7, 8), Claudine Berr (9, 10), Carole Dufouil (11, 12), Philippe Amouyel (13, 14), Serge Hercberg (15, 16), Pilar Galan (15, 16), Richard Redon (3, 4), Emmanuelle Génin (1, 2), Christian Dina (3, 4)

1. , Université de Bretagne Occidentale, Brest, France
2. , INSERM UMR1078, Brest, France
3. , Université de Nantes, Nantes, France
4. , INSERM UMR1087/CNRS UMR6291, Nantes, France
5. , INSERM U1167, Lille, France
6. , Institut Pasteur, Lille, France
7. , INSERM UMR1219, Bordeaux, France
8. , Université Bordeaux, Bordeaux, France
9. , Université Montpellier, Montpellier, France
10. , INSERM U1061, Montpellier, France
11. , Université Bordeaux 2, Bordeaux, France
12. , INSERM U897, Bordeaux, France
13. , Université de Lille 2, Lille, France
14. , INSERM U744 / Institut Pasteur de Lille / CHRU Lille, Lille, France
15. , Université Paris 13, Paris, France
16. , INSERM U1153 / Inra U1125, Cnam, Paris, France

Mots clefs : stratification de population, étude d'association

Résumé :

Dans le cadre des études d'association pangénomiques (Genome Wide Association Study, GWAS), les résultats des tests statistiques d'association peuvent être biaisés si la population étudiée n'est pas homogène. On parle du problème de stratification de population. La structure génétique de nombreux pays Européens a été largement étudiée, mais peu d'études se sont intéressées à la population française. En effet, en dehors du travail de Karakachoff et al (2015) qui s'est concentré sur la partie occidentale de la France, aucune étude n'a donné un regard complet sur le paysage génétique français. Nous décrivons ici la structure génétique de la population française à une échelle fine en utilisant des données génétiques d'individus nés en France et provenant de deux cohortes différentes : la cohorte de l'Etude des 3 Cités (3C) et la cohorte SU.VI.MAX. Dans l'étude 3C, 9294 personnes âgées de plus de 65 ans ont été recrutées dans les villes de Bordeaux, Dijon et Montpellier. Un sous-groupe de 4433 individus ont été génotypés sur une puce de SNPs et ont été utilisés comme témoins dans plusieurs études GWAS. La cohorte SU.VI.MAX. a été lancée en 1994 dans le but de recueillir des informations sur la consommation alimentaire et l'état de santé des français. Parmi les volontaires SUVIMAX, nous avons utilisé les données génétiques de 2834 individus. Nous disposons de plus sur les deux cohortes des lieux de naissance des individus (communes pour 3C et départements pour SUVIMAX).
L'approche classique permettant de détecter de la stratification de population est l'analyse en composantes principales. Une autre approche consiste à utiliser une information plus précise provenant des données haplotypiques. Les méthodes implémentées dans la suite CHROMOPAINTER (Hellenthal et al, 2014) et fineSTRUCTURE (Lawson et al, 2012) nous ont permis de classifier les individus en groupes homogènes. Bien que l'information géographique ne soit pas utilisée, ces méthodes appliquées sur les deux cohortes, ont révélé une forte corrélation entre l'origine géographique des individus et les axes de variation. Pour chacun des groupes identifiés, nous avons utilisé CHROMOPAINTER pour estimer un «profil d'ascendance». Ce profil permet d'estimer les contributions d'une population de référence au groupe étudié. Nous avons utilisé le panel des données européennes de 1000G. Nos résultats montrent un gradient nord-sud dans les profils d'ascendance. La contribution de l'Espagne est la plus forte pour les individus originaires du sud de la France alors que la contribution de la Grande-Bretagne est la plus forte pour les individus du nord de la France.
En conclusion, nous montrons qu'il existe un pattern de stratification génétique à l'échelle de la France fortement corrélé avec la géographie, et cela sur deux cohortes indépendantes. La connaissance de ces patterns de stratification permettra de concevoir des études d'association robustes face aux biais potentiels résultant de la stratification.

CO053 : Analyses trans-populations avec des données génétiques densément imputées : découverte de nouveaux locus pour des traits glycémiques

Auteurs :

Gaelle Marenne (1, 2), Consortium MAGIC (3)

1. Génétique Humaine, Wellcome Trust Sanger Institute, Hinxton, Cambridge, Royaume Uni
2. , UMR1078, Inserm, Univ Bretagne Occidentale, CHRU, EFS, Brest, France
3. , Meta-Analyses of Glucose and Insulin-related traits Consortium, , Royaume Uni

Mots clefs : étude d'association pan-génomique (GWAS), meta-analyse, trans-populations, traits glycémiques

Résumé :

Les études d'association pan-génomiques ont identifié plus de 120 locus associés aux mesures glycémiques, principalement sur des populations européennes. Nous présentons ici la première analyse trans-populations à grande échelle de quatre mesures glycémiques : glycémie à jeun (GJ), insuline à jeun (IJ), hémoglobine glyquée (HbA1c) et glycémie à 2 heures (G2h). Notre but était d'identifier de nouveaux locus associés aux mesures glycémiques, de comparer les signaux entre populations et d'utiliser les différences de déséquilibre de liaison entre populations entre pour affiner les régions génétiques autour des signaux d'association.
Cet effort a combiné des données génétiques, imputées avec le projet 1000 Genomes, de 281 416 personnes non-diabétiques de cinq populations (71% d'Europe, 13% d'Asie de l'Est, 7% d'Amérique du sud, 6% d'Afro-Américains et 3% d'Asie du Sud). Les analyses d'association par cohorte étaient basées sur un modèle additif ajusté sur l'indice de masse corporelle (IMC) pour GJ, IJ et G2h. Des méta-analyses à effets fixes ont été réalisées par population, puis combinées dans des méta-analyses trans-populations avec MANTRA, autorisant une hétérogénéité entre populations. Les signaux HbA1c ont été classés comme érythrocytaires ou glycémiques. Enfin, GARFIELD et DEPICT ont été utilisés pour effectuer des analyses d'enrichissement fonctionnel, tissulaire et de voies métaboliques.
Nous avons identifié 102 signaux trans-populations associés à GJ (dont 51 nouveaux). Les nouveaux signaux GJ les plus significatifs et non décrits pour le diabète se trouvent dans les gènes *NFX1* et *ZBTB38*. Pour IJ, HbA1c et G2h, nous avons identifié respectivement 62, 130 et 21 signaux trans-populations (43, 61 et 10 nouveaux). Les nouveaux signaux les plus significatifs pour IJ, HbA1c et G2h, et non décrits pour le diabète se situent dans les gènes *BCL2*, *LRRC16A* et *CLEC14A*. *BCL2* a été associé au rapport taille-hanche et à l'IMC, *LRRC16A* a été associé dans le nombre et le volume des plaquettes. Cette approche trans-populationnelle a permis de découvrir de nouveaux variants génétiques moins fréquents, ou à effet plus modeste, ainsi que des signaux spécifiques de population. Les signaux HbA1c ont été principalement classés comme érythrocytaires (~ 70%), ce qui est cohérent avec les résultats des analyses d'enrichissement ayant identifié les systèmes immunitaire et sanguin, ainsi que les voies métaboliques de l'anémie. Les analyses d'enrichissement ont identifié le foie pour tous les traits glycémiques ; le pancréas pour HbA1c et GJ; les tissus adipeux et gras, les glandes surrénales et le cortex pour l'IJ.
Cet effort international à grande échelle a permis d'identifier plus d'une centaine de nouveaux locus associés aux traits glycémiques, posant ainsi de nouvelles hypothèses sur la biologie et l'architecture génétique des traits liés au glucose et à l'insuline.

Abstract_AssiseGenetHumMed2018_v3_FR.docx

CO054 : Etude d'association épigénome-entier (EWAS) avec l'infection VIH

Auteurs :

Kevin Hoang (1), George Nelson (2), Nicolas Vince (1), Pierre-Antoine Gourraud (1), Cheryl Winkler (2), Sophie Limou (1, 3)

1. Centre de Recherche en Transplantation et Immunologie UMR 1064, INSERM, Université de Nantes, Nantes, France, Nantes, France
2. Basic Research Laboratory, NIH/NCI, Frederick National Laboratory, Leidos Biomedical Research, Inc., Frederick MD, Etats-Unis
3. Département informatique et mathématiques, Ecole Centrale de Nantes, Nantes, France

Mots clefs : EWAS, DNA methylation, Epigenetics, HIV infection, Host factors

Résumé :

Background. For nearly 25 years, extensive genetic and genomic association studies have revealed essential host factors for HIV control and disease progression, which notably led to the development of a new class of antiretroviral inhibitors (CCR5 antagonists). Overall, the identified associations account for ~20% of the phenotypic variance suggesting that other factors are yet to be discovered. Epigenetic mechanisms are critical to control HIV integration into host genome and latency, but epigenetic modifications of host genome after HIV infection have not been fully characterized. Here, we explore whether HIV-1 infection modifies the host epigenome DNA methylation patterns to identify host factors associated to HIV-infection.
Methods. We recruited 19 untreated HIV-infected individuals from the DC Gay cohort with longitudinal follow-up and PBMC samples available from pre-infection, early post-infection (<12 months), post-infection during clinical latency and post-infection at or near the inflection point. Following DNA and RNA extraction from these 80 PBMC samples, DNA was bisulfite-converted and genotyped with the Illumina Infinium HumanMethylation450 arrays, covering over 485,000 methylation sites across the genome. After normalizing the data, we compared the DNA methylation profiles of pre-infection (n=23) *vs.* post-infection (n=57) samples adjusting for batch effect, age, cell composition, and population stratification.
Results. Our analysis revealed that host genome DNA methylation profile is impacted by HIV-1 infection and highlighted several significantly differentially methylated sites ($P<10^{-7}$). These differentially methylated sites are located within genes previously known to exhibit an immune-related function or to interact with HIV-1 proteins (*PARP9*, *MX1*, *HLA* and *CCR* genes in the top 5 hits).
Conclusions. We established a unique collection of samples representing pre-infection and post-infection timepoints, which allows for detection of DNA methylation changes within an individual and between individuals following HIV infection and during the HIV-1 infection course. This epigenome-wide association study conducted in HIV-infected subjects has identified targets of epigenetic modifications by HIV. Our report indicates that the exploration of host epigenetic mechanisms opens a new promising avenue for discovery of critical host factors interacting with the virus that might be leveraged for translation to drug or vaccine development.

CO055 : Une approche familiale pour identifier de nouveaux gènes modificateurs dans les démences lobaires frontotemporales.

Auteurs :

Mathieu Barbier (1), Agnès Camuzat (1), Marion Houot (2), Fabienne Clot (3), Paola Caroppo (4), Clémence Fournier (1), Daisy Rinaldi (2), Florence Pasquier (5), Didier Hannequin (6), Jérémie Pariente (7), Kathy Larcher (3), Alexis Brice (1), Emmanuelle Génin (8), Audrey Sabbagh (9), Isabelle Le Ber (10)

1. INSERM U1127, CNRS UMR 7225, UPMC Université Paris 06 UMR S1127, Institut du Cerveau et de la Moelle épinière, Paris, France
2. Institute of Memory and Alzheimer's Disease (IM2A), Centre of excellence of neurodegenerative disease (CoEN), ICM, APHP Department of Neurology, Paris, France
3. Unité Fonctionnelle de Neurogénétique Moléculaire et Cellulaire, Département de Génétique et Cytogénétique, AP-HP, Hôpitaux Universitaires La Pitié Salpêtrière-Charles Foix, Paris, France
4. , Carlo Besta Neurological Institute, IRCCS Foundation, Milano, Italie
5. Department of Neurology, Memory Research and Resources Clinic, University Hospital of Lille, Lille, France
6. Department of Neurology, University Hospital, Rouen, France
7. Département de Neurologie, Equipe TONIC, CHU Toulouse, Toulouse, France
8. INSERM, UMR1078, CHU Brest, Université Bretagne Occidentale, Brest, France
9. UMR216 - MERIT, Institut de Recherche pour le Développement (IRD), Paris, France
10. INSERM U1127, CNRS UMR 7225, UPMC Université Paris 06 UMR S1127, ICM, APHP Department of Neurology, Paris, France

Mots clefs : Frontotemporal dementia, amyotrophic lateral sclerosis, modifier genes, C9ORF72, progranulin, heritability, linkage, familial association.

Résumé :

Les démences lobaires frontotemporales (DLFT), bien que considérées comme des maladies rares, représentent la seconde cause de démences dégénératives précoces après la maladie d'Alzheimer. Les DLFT sont caractérisées par des troubles du comportement ou une atteinte du langage. Une sclérose latérale amyotrophique liée à une atteinte des motoneurones est associée chez près de 15% des cas (DLFT-SLA).
Les formes familiales représentent près de 40% des DLFT. Les mutations de *C9ORF72*, *GRN* et *MAPT* expliquent la majorité de ces formes. En revanche il y a très peu de connaissances pour expliquer la variabilité de l'âge de début des symptômes. Ces derniers peuvent apparaitre durant la trentaine pour les formes les plus précoces jusqu'à des cas de pénétrances incomplètes chez des sujets âgés, en particulier dans les formes avec mutations *C9ORF72* et *GRN*. Le but de ce travail est de caractériser les variations génétiques pouvant influencer l'âge de début des symptômes.
Notre étude est basée sur les données cliniques, généalogiques et génétiques d'une cohorte de 504 patients issus de 223 familles *C9ORF72* (n=133) et *GRN* (n=90). L'objectif était de : 1) évaluer l'héritabilité de l'âge de début des symptômes; 2) analyser les profils de corrélations phénotypiques intrafamiliales; 3) identifier les *loci* responsables dans ces deux formes génétiques.
L'analyse des familles DLFT *C9ORF72* nous a permis d'estimer à 42% ($P = 1.10^{e-4}$) et 62% ($P = 8.10^{e-5}$) l'héritabilité de l'âge de début des symptômes selon le mode début de la maladie considéré (DLFT et/ou SLA ou DLFT pure). L'analyse approfondie des profils particuliers de corrélations phénotypiques intrafamiliales a également permis de suggérer un lien entre de possibles modificateurs et le chromosome X. L'étude des familles DLFT *GRN* a révélé une estimation d'héritabilité moindre ainsi que de plus faibles niveaux de corrélations phénotypiques intrafamiliales.
Les analyses familiales de liaison et d'association entre paires d'apparentés avec des phénotypes concordants et discordants et mutés pour *C9ORF72* ou *GRN* ont, entre autre, mis en évidence deux nouveaux *loci* candidats avec des scores suggestifs de liaison et d'association. Un des deux *loci* se situe sur le chromosome X incluant cinq gènes d'intérêt majeur. Des investigations supplémentaires sont en cours pour augmenter la taille de notre cohorte et mettre en évidence les variations impliquées.
L'ensemble de ce travail illustre l'intérêt d'utiliser des approches familiales dans une maladie rare pour mettre en évidence de nouveaux modificateurs génétiques. Malgré une cohorte de taille restreinte, cette méthodologie couplée à des données phénotypiques précises nous a permis d'émettre des hypothèses quant à la présence et la localisation d'éventuels modificateurs génétiques et de mettre en évidence des nouveaux *loci* qui n'auraient pas été obligatoirement détectés par des approches méthodologiques différentes de type cas-contrôles.

abstract_barbier_v3.docx

CO056 : Le réseau AChroPuce : 10 ans après, quelles perspectives ?

Auteurs :

Serge Pierrick Romana (1), Benoit Arveiler (2), Elise Boudry-Labisma (3), Joris Andrieux (3), Marc-Antoine Belaud Rotureau (4, 5), Brigitte Benzacken (6), frédéric Bilan (7), Sophie Brisset (8), Cédric Le Caignec (9), laurence Caine (10), Patrick Callier (11), Sandra Chantot (12), Nicolas Chatron (10), Véronique David (13), Martine Doco-Fenzy (14), Severine Drunat (15), Jean michel Dupont (16), Delphine Fauvert (17), Manon Girard (18), Agnès Guichet (19), Guignard Thomas (18), Houda Karmous-Benailly (20), Boris Keren (21), Valérie Malan (1), Jean Muller (22, 23), Chantal Missirian (24), Anne Moncla (24), Philippe Jonveaux (25), Jacques Puechberty (18), Caroline Rooryck-Thambo (26), Véronique Satre (27, 28), Jean-Pierre Siffroi (29), Anne-Claude Tabet (30), François Vialard (17), Lucie Tosca (8), Gérard Tachdjian (8), Philippe Vago (31), Damien SANLAVILLE (10)

1. AP-HP, Service de Cytogénétique Hôpital Necker Enfant Malades, Paris et UMR_S1163 IHU Imagine,, AP-HP, Paris, France
2. Unité Fonctionnelle de Génétique Biologique, CHU de Bordeaux, Bordeaux, CHU Bordeaux, Bordeaux, France
3. CHRU de Lille, Service de génétique, Hôpital Jeanne de Flandre, 59037 Lille Cedex, CHRU Lille, Lille, France
4. Service de Cytogénétique et Biologie Cellulaire - CHU de Rennes , CHU Rennes, Rennes, France
5. IRSET U1085- INSERM Rennes, INSERM, Rennes, France
6. AP-HP, Service d'Histo-Embrologie Cytogénétique, BDR, CECOS, Hôpital Jean Verdier, AP-HP, Paris, France
7. Laboratoire de Génétique Biologique, CHU de Poitiers, Université de Poitiers, Poitiers , CHU de Poitiers, Poitiers, France
8. AP-HP, Service d'Histologie-Embryologie-Cytogénétique, Hôpitaux universitaires Paris-Sud, site Antoine Béclère, Clamart., AP-HP, Paris, France
9. CHU Nantes, Service de génétique médicale, Nantes, CHU de Nantes, Nantes, France
10. Service de Génétique, Laboratoire de Cytogénétique, CHU de Lyon,, HCL, Lyon, France
11. Laboratoire de Génétique Chromosomique et Moléculaire, CHU de Dijon, CHU de Dijon, Dijon, France
12. AP-HP, Département de Génétique médicale, UF de Génétique chromosomique, hôpital d'Enfants Armand Trousseau, Paris, APHP, Paris, France
13. Service de Biochimie et Biologie moléculaire - CHU de Rennes , CHU de Rennes, Rennes, France
14. CHU Reims, SFR CAP-SANTE, EA 3801, CHU Reims, CHU de Reims, Reims, France
15. U.F. de Génétique Moléculaire, Département de Génétique, C.H.U. Robert Debré, AP-HP, Paris, France
16. Université Paris Descartes, Faculté de médecine ; APHP, HUPC – Site Cochin ; Paris, AP-HP, Paris, France
17. Unité de Cytogénétique, CHI Poissy Saint-Germain, Poissy., CHI Poissy, Poissy, France
18. Département de Génétique Médicale, Hôpital Arnaud de Villeneuve, CHU de Montpellier., CHU de Montpellier, Montpellier, France
19. Service de Génétique 4 rue Larrey 49933 Angers cedex, CHU d'Angers, Angers, France
20. Service de Génétique Médicale. Laboratoire de Cytogénétique. Hôpital Archet2. CHU de Nice., CHU de Nice, Nice, France
21. Département de Génétique et Centre de Référence Déficiences Intellectuelles de Causes Rares, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Assistance Publique - Hôpitaux de Paris, Paris 75651, France., AP-HP, Paris, France
22. Laboratoires de Diagnostic Génétique, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, CHU de Strasbourg, Strasbourg, France
23. Laboratoire de Génétique médicale, UMR_S INSERM U1112, IGMA, Faculté de Médecine FMTS, Université de Strasbourg, Strasbourg, France, INSERM, Strasbourg, France
24. Département de Génétique Médicale, laboratoire de Génétique Chromosomique. Hôpital Timone enfants, AP-HM,, AP-HM, Marseille, France
25. Laboratoire de génétique, CHRU de Nancy, Université de Lorraine, Inserm U954, Nancy, CHU de Nancy, Nancy, France
26. Unité Fonctionnelle de Génétique Biologique, CHU de Bordeaux, Bordeaux, CHU de Bordeaux, Bordeaux , France
27. Laboratoire de Génétique Chromosomique, Centre Hospitalier Universitaire Grenoble Alpes, 38000 Grenoble, France, CHU de Grenoble, Grenoble, France
28. Institute for Advanced Biosciences, Inserm U 1209, CNRS UMR 5309, Université Grenoble Alpes, Laboratoire de Génétique Chromosomique, Centre Hospitalier Universitaire Grenoble Alpes, 38000 Grenoble, France, CNRS, Grenoble, France
29. AP-HP, Département de Génétique médicale, UF de Génétique chromosomique, hôpital d'Enfants Armand Trousseau, Paris, AP-HP, Paris, France
30. AP-HP, Laboratoire de Cytogénétique, Département de Génétique, Hôpital Robert Debré, Paris, AP-HP, Paris, France
31. Service de Cytogénétique Médicale, CHU Estaing, F-63003 CLERMONT-FERRAND Cedex 1, CHU de Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, France

Mots clefs : ACPA, WGS, organisation des laboratoires, génomique

Résumé :

Soutenue par la Direction de l'Hospitalisation et de l'Organisation des Soins (DHOS), la technique d'Analyse Chromosomique sur Puce à ADN (ACPA) a été implantée dans les laboratoires de diagnostic dès 2007. Douze centres coordonnateurs, en relation avec 44 CHU ont été retenus permettant de couvrir l'ensemble du territoire national. Le réseau AChroPuce a été constitué en 2008 aux Assises de génétique à Lille avec pour objectifs principaux d'harmoniser les pratiques, rédiger un guide

de bonnes pratiques, mettre en place un EEQ et favoriser les études collaboratives. En 10 ans, ces objectifs ont été atteints et même dépassés avec en plus le transfert en diagnostic de l'ACPA en période prénatale, un travail sur l'accréditation de l'ACPA, le partage de sondes pour les vérifications FISH, une réflexion éthique sur les données secondaires, une négociation des tarifs commerciaux au niveau national, l'organisation d'une base de données nationale de variations du nombre de copies (CNV) et plus de 100 publications scientifiques en collaboration.
Le nombre d'ACPA réalisé par an est passé de 500 à environ 21 000 en 10 ans. Dix ans plus tard et avec l'arrivée de la technique de Whole Genome Sequencing (WGS), dont le transfert en diagnostic pour les maladies rares et le cancer est prévu dans le cadre du plan France Médecine Génomique 2025 et qui se concrétisera par la mise en place d'ici fin 2018 des deux plateformes pilotes de séquençage à très haut débit, se pose la question des perspectives de ce réseau. En effet, les algorithmes d'analyse de variations du nombre de copies vont s'améliorer ainsi que ceux pour la détection de variations structurales équilibrées. De ce fait, dans 5 ans la technique de WGS sera capable de détecter des CNV de façon aussi fiable que l'ACPA. Néanmoins, les compétences pour analyser les CNV perdureront et devront même être renforcées puisque des CNV de plus petite taille pourront également être détectées. A l'avenir, la séparation entre génétique moléculaire et cytogénétique sera amenée à disparaître d'un point de vue technologique. Deux grandes options sont alors envisageables : soit former des spécialistes des variants structuraux équilibrés et déséquilibrés (SV) et des spécialistes des variants nucléotidiques (SNV) qui travailleront en synergie, soit former des spécialistes d'une thématique (déficience intellectuelle, infertilité...) qui analyseront aussi bien les CNV que les SNV. De toute manière, il sera indispensable de poursuivre la formation à la physiopathologie chromosomique, nécessaire au conseil génétique des réarrangements génomiques. Seront discutées les perspectives du réseau et les objectifs à atteindre eu égard i) à la question fondamentale de l'organisation future des laboratoires de génomique et ii) à la mise en place du réseau NGS-Diag, avec en perspective le Plan National Maladies Rares 3 et des liens avec le plan France Médecine Génomique 2025.

Assises Nantes 2018 réseau AChroPucev3 soumis.doc

CO057 : Les approches de génomique intégrative identifient un réseau de gènes pour le développement de médicaments anti-épileptiques

Auteurs :

Andrée Delahaye-Duriez (1, 2), Prashant Srivastava (3), Kirill Shkura (3), Sarah Langley (4), Liisi Laaniste (3), Aida Moreno-Moral (4), Benedicte Danis (5), Manuela Mazzuferi (5), Patrik Foerch (5), Elena Gazina (6), Kay Richards (6), Steven Petrou (6), Rafal Kaminski (5), Enrico Petretto (4), Michael Johnson (3)

1. PROTECT, INSERM, Paris, France
2. UFR SMBH, Université Paris 13, Bobigny, France
3. Division of Brain Sciences, Faculty of Medicine, Imperial College of London, Londres, Royaume Uni
4. Centre for Computational Biology, Duke-NUS Medical School, Singapore, Singapour
5. Neuroscience TA, UCB Pharma S.A., Bruxelles, Belgique
6. The Florey Institute of Neuroscience and Mental Health, The University of Melbourne, Parkville, Australie

Mots clefs : Biologie des systèmes, réseaux de gènes co-exprimés, interaction protéine-protéine, épilepsie, transcriptome

Résumé :

L'épilepsie est une maladie neurologique grave qui se caractérise par une récurrence non provoquée de crises convulsives. La biologie des systèmes et les analyses de réseaux de gènes constituent des approches puissantes pour étudier les voies moléculaires impliquées dans l'épilepsie. Elles ont aussi déjà permis de pointer de nouvelles cibles thérapeutiques.
Des données en accès libre issues de plusieurs types d'études ont été ré-analysées en utilisant des approches de génomique intégrative basées sur l'analyse des réseaux de gènes et de protéines. La nouvelle exploitation de ces données a permis l'identification du réseau M30. Le réseau M30 se compose de 320 gènes largement exprimés dans le cerveau humain sous un contrôle étroit pendant le développement. Ces gènes codent principalement pour des protéines qui interagissent entre elles et qui sont impliquées dans des processus synaptiques. L'altération fonctionnelle de M30 par des variations génétiques rares ou communes, et la diminution de son expression semblent constituer un mécanisme convergent influençant la susceptibilité à l'épilepsie et aux crises d'épilepsie en général.
En tirant profit des changements d'expression induits par des médicaments rapportés dans la base de données "Connectivity map" (CMap) pour 1,300 composés thérapeutiques, nous avons pu sélectionner les médicaments dont l'effet sur l'expression de M30 est d'inverser la diminution d'expression observée dans les cerveaux épileptiques. Les meilleurs résultats ont été obtenus pour l'acide valproïque (anti-épileptique plus connu sous le nom commercial de Depakine), apportant une nouvelle preuve de concept au paradigme de réversion de la signature transcriptionnelle comme stratégie thérapeutique. Le dépistage systématique de médicaments en fonction de leur effet mesuré sur l'expression des gènes a également prédit que la withaferine A (WFA) inverse les changements d'expression de M30 associés à l'épilepsie.
Au total, nos résultats suggèrent qu'en ciblant le réseau M30 on pourrait identifier de nouvelles molécules anti-épileptiques et développer de nouvelles stratégies thérapeutiques contre l'épilepsie (Genome Biology 2016, doi: https://doi.org/10.1186/s13059-016-1097-7).

abstract2017.docx

CO058 : Recommandation française du Groupe Génétique et Cancer pour l'analyse en panel de gènes dans le cadre de la prédisposition héréditaire au cancer du sein ou de l'ovaire – Quels gènes analyser ? Pour quelle utilité clinique?

Auteurs :

JESSICA MORETTA SERRA (1), Christine LASSET (2, 3), Pascaline BERTHET (4), Valérie BONADONA (5), Olivier CARON (6), Odile COHEN-HAGUENAUER (7), Chrystelle COLAS (8), Carole CORSINI (9), Veronica CUSIN (10), Antoine DE PAUW (11), Capucine DELNATTE (12), Sophie DUSSART (13), Michel LONGY (14), Elisabeth LUPORSI (15), Christine MAUGARD (16, 17), Tan Dat NGUYEN (18), Pascal PUJOL (19), Dominique VAUR (20), Nadine ANDRIEU (21), CATHERINE NOGUES (1, 22)

1. Département d'Anticipation et de Suivi des Cancers, Oncogénétique clinique, INSTITUT PAOLI CALMETTES, Marseille, France
2. Unité de prévention et Epidémiologie Génétique, Centre Léon Bérard, Lyon, France
3. UMR CNRS 5558 , Université de Lyon, Lyon, France
4. Département de biopathologie, Oncogénétique clinique, Centre François Baclesse, Caen, France
5. Unité Clinique d'Oncologie Génétique, Centre Leon Berard, Lyon, France
6. Département de Médecine, Gustave Roussy Hôpital Universitaire, Villejuif, France
7. Unité d'Oncogénétique , GH Saint-Louis Lariboisière Fernand Widal, Paris, France
8. Oncogenetique, Hopital Pitié-Salpêtrère-Charles Foix, Paris, France
9. service d'oncogénétique , Hôpital Arnaud de Villeneuve, CHRU Montpellier, Montpellier, France
10. Service de génétique, Hopital Pitié-Salpêtrère-Charles Foix, Paris, France
11. Service de génétique, Institut Curie, Paris, France
12. Unité d'oncogénétique, ICO-Centre René Gauducheau, Nantes, France
13. Unité Clinique d'Oncologie Génétique, Centre Léon Bérard, Lyon, France
14. Oncogénétique & INSERM U 1218, Institut Bergonié, Bordeaux, France
15. Oncogenetique, CHR Metz Thionville, Metz, France
16. Oncogénétique Moléculaire, Laboratoire d'Oncobiologie, CHU Strasbourg, Strasbourg, France
17. Oncogénétique Clinique. Evaluation familiale et suivi, CHU Strasbourg, Strasbourg, France
18. Oncogenetique, Institut Jean Godinot, Reims, France
19. Oncogenetique, Hôpital Arnaud de Villeneuve, CHRU Montpellier, Montpellier, France
20. Laboratoire de biologie et de génétique du cancer, Centre François Baclesse, Caen, France
21. INSERM U900 Equipe Epidémiologie Génétique des Cancers, Institut Curie, Paris, France
22. INSERM IRD SESSTIM, Aix Marseille Université, Marseille, France

Mots clefs : cancer, sein, ovaire, prédisposition, séquençage haut débit, panel

Résumé :

Contexte
Les mutations des gènes BRCA1/2 et PALB2, recherchées en routine dans les contextes évocateurs de prédisposition aux cancers du sein ou de l'ovaire, expliquent moins de 10% des histoires familiales. Or ces dernières années l'apport des technologies de séquençage haut débit a permis de rendre possible l'analyse simultanée d'un grand nombre de gènes (analyse en panel de gènes) pour lesquels un lien avec une augmentation des risques de ces cancers a été rapporté.
En France, en l'absence de référentiel, les pratiques diffèrent aussi bien pour la sélection des nouveaux gènes analysés en panel que pour la prise en charge des personnes chez qui une mutation germinale a été identifiée.
Ainsi le Groupe Génétique et Cancer GGC (UNICANCER) a constaté que l'utilité clinique de la recherche de mutation de ces nouveaux gènes était à préciser. Ceci a incité les acteurs du GGC à conduire un travail visant à définir le panel de gènes à analyser dans la prédisposition au cancer du sein ou de l'ovaire, et à établir des recommandations spécifiques à chaque gène expertisé pour la prise en charge clinique des familles.
Méthodologie
Une analyse critique de la littérature par un groupe de travail composé de membres du GGC a permis de retenir les données permettant des estimations de risque sans biais. Les gènes ont été reconnus d'utilité clinique lorsque le sur-risque de cancer du sein (ou de l'ovaire) était au moins 4 fois supérieur au risque en population générale (différentiel de risque permettant de proposer dans une famille des tests génétiques pré symptomatiques : Easton et al, N Engl J Med 2015 Gene-panel sequencing and the prediction of breast-cancer risk).
Résultats
En pratique, parmi les 18 gènes d'intérêt (en plus de *BRCA1* et *BRCA2)* expertisés, le GGC retient un panel de 13 gènes d'utilité clinique confirmée qu'il recommande d'analyser devant tout contexte évocateur d'une prédisposition aux cancers du sein ou de l'ovaire : *BRCA1, BRCA2, PALB2, TP53, CDH1, PTEN, RAD51C, RAD51D, MLH1, MSH2, MSH6, PMS2 et EPCAM*. Il dresse également l'argumentaire ayant conduit à ne pas retenir les 7 autres gènes (*CHEK2, ATM, BARD1, BRIP1, NBN,*

RAD51B, STK11). De plus, grâce à ce travail, le groupe présente pour chaque gène expertisé les préconisations de dépistage, de prévention et de conseil génétique dans les familles, que les données scientifiques actuelles et les référentiels autorisent.

Perspectives

Les laboratoires d'oncogénétique s'organisent pour appliquer ce nouveau panel avec les critères de qualité et les réseaux d'expertises associés. De plus un protocole de recherche (TUMOSPEC), promu par UNICANCER, est actuellement mis en place pour estimer plus précisément les risques de cancer en relation avec un ensemble de gènes notamment ceux non retenus dans le panel actuel. Compte tenu de la rapidité d'évolution des connaissances, une mise à jour annuelle des données est prévue par le groupe de travail, avec une attention particulière pour les gènes *ATM*, *CHEK2* et *STK11*.

Panel genes predisposition cancers sein ovaire_Résumé soumission Assises génétique.doc

CO059 : De l'urine de patients à une stratégie de modélisation des dyslipidémies génétiques en 3D par le biais de cellules hiPS différenciées en hépatocytes.

Auteurs :

Karim Si-Tayeb (1), Méryl Roudaut (1, 2), Amandine Caillaud (1), Aurélie Thédrez (1), Wienecke Dijk (1), Aurore Girardeau (1), Matthieu Pichelin (1), Lucie Arnaud (1), Cédric Le May (1), Nathalie Maubon (2), Bertrand Cariou (1)

1. , l'institut du thorax, INSERM, CHU Nantes, Nantes, France, Nantes, France
2. , HCS Pharma, Lille, France

Mots clefs : PCSK9; hypercholestérolémie familiale; hypobétlipoprotéinémie familiale; hiPSC; hépatique différenciation; modélisation; 3D; haut débit

Résumé :

La proprotéine convertase subtilisin kexin de stype 9 (PCSK9) est un régulateur majeur de l'homéostasie du cholestérol, en contrôlant l'expression du récepteur aux LDL (LDLR) au niveau du foie. Alors que les mutations gain de fonction (GOF) de PCSK9 sont associées à l'hypercholestérolémie autosomale dominante (ADH) et à une athérosclérose précoce, les mutations perte de fonction (LOF) ont un effet cardioprotecteur et peuvent conduire dans certain cas au développement d'une hypobétalipoprotéinémie familiale (FHBL). Bien que des traitements contre l'ADH ciblant PCSK9 sont disponibles, les modèles cellulaires actuels permettant de mieux comprendre les fonctions de PCSK9 sont limités.
Notre objectif a été de valider le modèle de cellules souches pluripotentes induites humaines (hiPS) générées à partir de cellules urinaires pour la modélisation de l'ADH et de la FHBL liées aux mutations de PCSK9.
Pour atteindre notre objectif, nous avons utilisé des échantillons d'urines de patients porteurs de différentes mutations de PCSK9, ou de sujets sains, comme source de cellules somatiques pour obtenir des cellules hiPS après reprogrammation *via* des vecteurs épisomaux. Les cellules hiPS ont ensuite été différenciées en hépatocytes afin d'en étudier le phénotype.
Comparés aux cellules contrôles, les hépatocytes portant la mutation GOF S127R secrètent moins de PCSK9 et montrent une diminution de 71% de l'internalisation des LDL, alors que les hépatocytes portant la double mutation hétérozygote LOF R104C/V114A présentent une forte décroissance de la sécrétion de PCSK9 et une augmentation de 106% de l'internalisation des LDL. Un traitement par statine (pravastatine) stimule l'expression génique du LDLR et de PCSK9, ainsi que la sécrétion de PCSK9 et l'internalisation des LDL à la fois dans les cellules contrôles et les cellules de patients hypercholestérolémiques portant la mutation GOF S127R. De plus, l'augmentation de l'internalisation du LDL de 2,19 ± 0,77 par les hépatocytes S127R traités par la pravastatine (*versus* 1,38 ± 0,49 pour les hépatocytes contrôles) reflète la bonne réponse clinique aux statines (-60,4% ; n=5) des patients portant cette même mutation.
En conclusion, les échantillons d'urines sont une source remarquable de cellules somatiques pouvant être reprogrammées en cellules hiPS et différenciées en hépatocytes pour l'étude de maladies métaboliques. Ce modèle va nous permettre de mieux comprendre les fonctions de PCSK9 dans la régulation du métabolisme les lipoprotéines telles que l'apolipoprotéine B ou l'énigmatique Lp(a). Enfin, nous entreprenons une différentiation des cellules hiPS en 3 dimensions dans un format 96 puits pour optimiser la fonctionnalité des hépatocytes et adapter leur utilisation en analyse en haut débit (high content screening) et plus largement en pharmacogénomique en collaboration avec l'entreprise HCS Pharma.

CO060 : Thérapie cellulaire de l'épidermolyse bulleuse dystrophique récessive par injection intradermique de cellules stromales mésenchymateuses dans un modèle de xénogreffe murin

Auteurs :

Clarisse Ganier (1), Matthias Titeux (1), Sonia Gaucher (1, 2), Marc Le Lorch (3), Juliette Peltzer (4), Jean-Jacques Lataillade (5), Alain Hovnanian (1, 3)

1. Laboratoire des « maladies génétiques cutanées : des mécanismes pathologiques aux traitements », Institut Imagine - INSERM UMR 1163, Paris, France
2. Service de Chirurgie Générale, Plastique et Ambulatoire, APHP, Hôpitaux Universitaires Paris Centre, Hôpital Cochin, Paris, France
3. Département de génétique, Hôpital Necker-Enfants malades, Paris, France
4. IRBA/CTSA/HIA Percy, École du Val de Grâce, Université Paris-Sud, Unité mixte Inserm/SSA 1197, Clamart, France
5. IRBA/CTSA/HIA Percy, École du Val de Grâce, Université Paris-Sud, Unité mixte Inserm/SSA 1197, Clamart, France

Mots clefs : Thérapie cellulaire, cellules stromales mésenchymateuses, épidermolyse bulleuse dystrophique récessive, maladie génétique cutanée

Résumé :

L'épidermolyse bulleuse dystrophique récessive (EBDR) est l'une des maladies génétiques cutanées les plus graves de l'enfant et de l'adulte jeune. L'EBDR est due à des mutations du gène *COL7A1* entraînant une perte de fonction du collagène VII (C7). C7 est secrété localement par les kératinocytes épidermiques et les fibroblastes dermiques. Il est le composant principal des fibrilles d'ancrage, structures essentielles pour l'adhésion de l'épiderme au derme sous-jacent. Les sujets atteints d'EBDR présentent des bulles et des décollements cutanéo-muqueux secondaires à des traumatismes minimes, responsables de plaies chroniques et de nombreuses complications locales (pseudosyndactylies, contraction et fibrose cutanée, sténose oesophagienne) et systémiques (inflammation, dénutrition, anémie). La survenue de carcinomes épidermoïdes cutanés agressifs sur les plaies chroniques reste la première cause de décès de ces jeunes patients. Il n'existe pas à ce jour de traitement spécifique.
Les injections locales et systémiques de cellules stromales mésenchymateuses (CSM) allogéniques dérivées de la moelle osseuse ont montré leur potentiel pour réduire l'inflammation cutanée et améliorer la cicatrisation des plaies chez les patients EBDR. Ces améliorations cliniques sont cependant transitoires. Les mécanismes d'action des CSM dans l'EBDR et leur durée de vie après injection sont mal connus. Les CSM pourraient agir *via* leurs propriétés anti-inflammatoires, l'expression de C7 endogène par un effet paracrine et/ou l'expression de C7 par les CSM injectées. Dans cette étude, nous avons étudié l'expression de C7 par les CSM injectées par voie intradermique dans un modèle murin de xénogreffe EBDR. Ce modèle consiste en la greffe d'une peau reconstruite à partir de cellules de patients EBDR homozygotes pour une mutation nulle de *COL7A1* sur des souris immunotolérantes. La persistance des cellules injectées et la durée d'expression de C7 ont été analysées.
Les CSM utilisées pour l'injection locale expriment *in vitro* une quantité d'ARNm de *COL7A1* et de C7 comparable aux fibroblastes dermiques sains. L'injection intradermique d'une dose unique de CSM dans la peau EBDR reconstruite a permis de restaurer une expression de C7 humain normal produit par les cellules injectées. Le dépôt de C7 à la jonction dermo-épidermique est comparable au contrôle et persiste jusqu'à 6 mois après l'injection. La présence des CSM dans la peau reconstruite a été analysée par FISH et montre une persistance de celles-ci jusqu'à 4 mois après l'injection. Ces données montrent que les CSM injectées par voie intradermique ont le potentiel de restaurer l'expression de C7 normal *in vivo* de façon prolongée et d'améliorer l'adhésion dermo-épidermique de la peau EBDR.

Clarisse GANIER_Résumé Assises Génétiques 2018_Therapie cellulaire.docx

CO061 : Performances du Dépistage Prénatal Non Invasif de la Trisomie 21 en cas de grossesse gémellaire

Auteurs :

Jessica MICHEL (1), Nicolas CHATRON (1, 2), Pascal MOUTY (3), Mohamed TAOUDI (3), Sylvie VONO (1), Marie LUINO (1), Eudeline ALIX (1), Audrey LABALME (1), Carine ABEL (4), Jocelyne ATTIA (5), Cyril HUISSOUD (4), Jérôme MASSARDIER (6), Mona MASSOUD (6, 7), Grégory EGEA (3), Marianne TILL (1), Marc NOUCHY (3), Caroline SCHLUTH-BOLARD (1, 2), Laure RAYMOND (3), Damien SANLAVILLE (1, 2), Marc NOUCHY (3)

1. Service de génétique, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
2. Equipe GENDEV, CRNL, INSERM U1028, , CNRS UMR5292, UCBL1, Lyon, France
3. Laboratoire Eurofins, Biomnis, Lyon, France
4. Centre de Diagnostic Anténatal, Hôpital de la Croix Rousse, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
5. Centre de Diagnostic Anténatal, Centre Hospitalier Lyon Sud, Hospices Civils de Lyon, Pierre-Bénite, France
6. Centre de Diagnostic Anténatal, Hôpital Femme Mère Enfant, Hospices Civils de Lyon, Bron, France
7. Centre de Diagnostic Anténatal, Centre des Grossesses Multiples, Hôpital Femme Mère Enfant, Hospices Civils de Lyon, Bron, France

Mots clefs : DPNI, grossesse gémellaire, trisomie 21, diagnostic prénatal

Résumé :

Le nombre de grossesses gémellaires n'a cessé d'augmenter en France depuis plus de 25 ans pour atteindre 1,74% des naissances en 2014 (INED). Les algorithmes utilisés dans le calcul du risque de trisomie 21 dans le cadre du dépistage anténatal ne sont pas validés en cas de grossesse multiple. Face à l'absence d'un test de dépistage de la trisomie 21 fiable dans cette situation, l'Association des Cytogénéticiens de Langue Française préconise la réalisation d'un test de dépistage prénatal non invasif de la trisomie 21.
Les laboratoires Biomnis et du CHU de Lyon réalisent ce test dans cette indication respectivement depuis décembre 2014 et avril 2016. Tous deux utilisent une approche de séquençage génome entier à faible profondeur. Le laboratoire Biomnis utilise une technologie Illumina (Verinata puis VeriSeq) alors que le CHU de Lyon utilise un séquenceur semiconducteur Proton (Life Technologies) et analyse des données avec le logiciel WISECONDOR (protocole Consortium H+). Le CHU de Lyon ne réalise pas d'estimation de la fraction fœtale.
Sur un total de 20107 tests réalisés, 1697 l'ont été pour des grossesses gémellaires (8.4%). L'âge moyen au prélèvement était de 34,1 ans contre 35,7 ans pour les grossesses simples. Le terme moyen de grossesse était de 15,9 semaines d'aménorrhée (SA) contre 16,8 SA en cas de grossesse simple. Sur 1695 résultats rendus, 13 étaient en faveur d'une trisomie 21 (0.77%), 1682 étaient négatifs pour la trisomie 21. Lors de la confirmation par caryotype sur ponction de liquide amniotique, 9 patientes étaient effectivement porteuses d'un fœtus trisomique 21 (grossesses bichoriales biamniotiques) dont un cas de trisomie 21 libre en mosaïque à 12%. Deux patientes ayant reçu un résultat positif sont perdue de vue ou en cours d'étude. L'un des deux cas de résultat faussement positif est une grossesse gémellaire pour laquelle l'un des fœtus est décédé pendant la réalisation du test sans qu'une étude cytogénétique n'ait pu être menée. Par ailleurs, nous avons identifié 2 résultats faux négatifs (naissance d'un enfant trisomique 21) dont un pour lequel le résultat avait été rendu douteux sur un premier prélèvement. En ne considérant que les prélèvements pour lesquels l'issue de grossesse est connue ce jour (n=862) on peut établir sur notre série des valeurs prédictives positive et négative du test de 81.8% et 99.7 % respectivement. Il est à noter que 9 tests ont été réalisés pour des grossesses triples. Les résultats étaient tous négatifs.
Si l'ensemble des issues de grossesse n'est pas encore connu, nos résultats montrent les bonnes performances du test de dépistage prénatal non invasif de la trisomie 21 en cas de grossesses gémellaires. Ces performances sont en accord avec les rares données de la littérature et doivent faire l'objet d'une collaboration de plus grande ampleur.

Abstract DPNi gémellaire 20171009DS.docx

CO062 : BANCCO : Banque Nationale des CNVs Constitutionnels

Auteurs :

Jean-Pierre Desvignes (1), David Salgado (2), Frédéric Bilan (3), Quentin Riche-Piotaix (3), Damien Sanlaville (4, 5), Christophe Béroud (6, 7)

1. GMGF UMR_S 910, Aix Marseille Université, MARSEILLE, France
2. GMGF UMR_S 910, INSERM, MARSEILLE, France
3. Service de Génétique, CHU Poitiers, Poitiers, France
4. Service de génétique, groupement hospitalier Est, Lyon, France
5. CNRS UMR 5292, Inserm U1028 Centre de recherche en neuroscience de Lyon, Université Claude-Bernard Lyon 1, Lyon, France
6. GMGF UMR_S 910, Aix Marseille University AMU, MARSEILLE, France
7. Département de Génétique et de biologie Cellulaire, APHM, MARSEILLE, France

Mots clefs : CNV, mutations, Patients, Phénotypes, CGH, NGS, cytogénétique, maladies rares, Base de données, interprétation

Résumé :

Les techniques de cytogénétique moléculaire, comme l'Analyse Chromosomique sur Puce à ADN (ACPA) permettent la détection de grands réarrangements, pertes ou gains de matériel génétique de plus de 1kb, nommés CNV (Copy Number Variation).
Ces CNVs sont souvent identifiés et associés à des maladies génétiques comme les déficiences intellectuelles. Plus de *100 000* analyses ACPA ont été réalisées à ce jour dans les laboratoires de diagnostic du réseau AchroPuce, et cette activité est évaluée à environ *20 000* analyses par an en France. Les technologies de séquençage à haut débit (NGS) permettent également de détecter les CNVs. L'un des enjeux majeurs de ces analyses (ACPA et NGS) est l'interprétation permettant de classer un CNV en pathogène ou bénin. Malheureusement de nombreux CNVs sont encore classés comme "VOUS" (Variant Of Unknown Significance) rendant le conseil génétique difficile. Connaître leur fréquence, dépendante de l'origine ethnique des patients, permettrait d'aider à leur interprétation. Afin de colliger les données de CNVs au niveau national et permettre le partage des informations facilitant leur interprétation, nous avons développé BANCCO (https://bancco.fr).
BANCCO est un système sécurisé permettant le stockage des données génomiques et phénotypiques grâce à une base de données PostgreSQL. BANCCO propose une interface web sécurisée conviviale développée en HMTL5, PHP et JavaScript et a obtenu l'accord CNIL (2071658v1).
Les utilisateurs ont accès à différents modules de saisie des données phénotypiques, d'import des CNVs (avec système de conversion automatique des coordonnées génomiques entre les 3 dernières versions du génome), de recherche de patients ou de CNVs selon différents critères et un Genome Browser permettant une visualisation simplifiée de l'ensemble des informations de BANCCO.
La description phénotypique des patients se fait à l'aide de l'ontologie HPO (Human Phenotype Ontology) recommandée par l'IRDiRC. Une fiche CNV présente le nombre d'observations, le mode de transmission, la liste des gènes, l'ensemble des CNVs issus de base de données publiques (dbVar, DGV et Clingen), les patients porteurs du même CNV avec un lien vers le centre de référence associé afin de faciliter les échanges et les collaborations, et l'ensemble des CNVs de BANCCO chevauchant ce CNV avec le pourcentage de couverture commune.
Dans le but de faciliter l'interprétation de ces mutations, BANCCO est lié à la base RDVD (Rare Disease Variant Database – https://rdvd.fr) contenant des SNVs (Single Nucleotide Variation) couplés également à des données phénotypiques.
Plusieurs formats d'import ont été implémentés afin de centraliser les données précédemment collectées par l'ensemble des centres. A ce jour BANCCO rassemble 34 157 CNVs identifiés chez 18 849 patients issus de 12 centres du réseau AChroPuce. Le phénotype est décrit à l'aide de 2 267 termes HPO permettant ainsi de faciliter l'interprétation des CNVs et le Match Making.

BANCCO_Assises_Génétique_2018DS.docx

CO063 : CanDiD : solution de stockage et interface de filtration, de hiérarchisation et d'interprétation des variants génétiques identifiés par séquençage haut débit pour le diagnostic moléculaire en génétique constitutionnelle et somatique

Auteurs :

Raphaël Lanos (1), Germain Paimparay (2), Baptiste Brault (2), Sophie Coutant (1), Antoine Rousselin (2), Pascale Saugier-Veber (1), Gaël Nicolas (1), Stéphanie Baert-Desurmont (1), Sophie Krieger (3), Agathe Ricou (2), André Blavier (4), Thierry Lecroq (5), Thierry Frébourg (1), Dominique Vaur (2), Laurent Castéra (2)

1. Unité de Génétique moléculaire, INSERM U1245, Centre Normand de Génomique Médicale et Médecine Personnalisée, CHU, Rouen, France
2. Laboratoire de Biologie et de Génétique du Cancer, INSERM U1245, Centre Normand de Génomique Médicale et Médecine Personnalisée, CLCC Centre François Baclesse, Caen, France
3. Laboratoire de Biologie et de Génétique du Cancer, INSERM U1245, Centre Normand de Génomique Médicale et Médecine Personnalisée, CLCC Centre François Baclesse, Université de Caen Normandie, Caen, France
4. , Interactive Biosoftware, Rouen, France
5. Laboratoire d'Informatique du Traitement de l'Information et des Systèmes, Université, Rouen, France

Mots clefs : base de donnée, interface, interprétation, variant

Résumé :

Depuis l'implémentation des séquenceurs haut débit (NGS) dans les laboratoires diagnostiques de génétique moléculaire et dans le contexte du plan National Médecine Génomique 2025, une des priorités est la maîtrise, standardisation et automatisation des pipelines bioinformatiques. L'INCa a initié le projet national « Structuration du séquençage de nouvelle génération à visée diagnostique en cancérologie». Dans ce cadre, notre équipe a développé des pipelines validés et automatiques ainsi qu'un outil interfacé de stockage et de manipulation de variants annotés. Cet outil répond à l'absence de solution gratuite suffisamment robuste et qualifiée pour le diagnostic. Actuellement, CanDiD est utilisé par les équipes partenaires et a permis de réaliser le diagnostic chez plus de 11000 patients en oncogénétique, en neurogénétique et en génétique des maladies métaboliques. CanDiD est en validation pour des applications en génétique somatique des cancers et en transfert vers d'autres centres de génétique.
CanDiD peut intégrer dans sa base de données (BDD) l'ensemble des variations et annotations issues des pipelines de NGS. Son système évolutif de type « clef-valeur » permet l'insertion dans la BDD de tout type de donnéesquel que soit le logiciel de « *variant-calling* » ou d'annotation utilisé. Après configuration de l'«*application programming interface* » (API) selon les besoins de chaque plateforme et type de diagnostic, les données sont mises à disposition, de manière sécurisée et standardisée, dans une interface graphique «utilisateur». Cette interface, en lien avec l'API, permet à l'utilisateur d'analyser les patients par série de validation personnalisable avec ses propres critères de filtration des variants. Il est possible (i) d'écrire des scenarii de validation linéaire afin de standardiser les analyses, optionnellement avec la création de sous jeux de données (augmentation des performances d'accès) et (ii) d'explorer à façon l'ensemble du jeu de données en accès complet avec la BDD via un moteur de requête graphique. CanDiD permet le calcul de la fréquence des variants et d'enregistrer des annotations privées de variants directement dans l'interface. L'utilisateur peut créer et organiser les annotations privées, notamment la classification en cinq classes selon les recommandations de l'ACMG, afin de conserver la mémoire de ces annotations et de garantir l'homogénéité d'interprétation des variants au fil du temps. Enfin, la gestion des droits permet, une fois le travail du généticien moléculaire terminé, de verrouiller en modification la série et d'exporter les données sous forme de rapport. Des liens contextuels vers les logiciels de navigation sur le génome sont paramétrés et les interfaces vers un système de gestion de laboratoire possibles. Les sources informatiques sont rendues librement disponibles sur un dépôt public localisé en France. https://gitlab.normandy-genomic-medicine.fr/

CanDiD_abstract_2018_assises_3000c_last_validéLC TF_tosubmit (2).docx

CO064 : Identification à partir de 33 patients d'un nouveau syndrome lié à des variants de novo du gène CHD3.

Auteurs :

Alexandra Afenjar (1, 2), Lot Snijders Blok (3, 4), Boris Keren (5), Caroline Nava (5, 6), Julien Buratti (5), Claude Estrade (5), Corinne Mach (5), Aurélie Lafitte (5), Mirna Assoum (7), Ana Cohen (8), Sophie Ehresmann (9), Laurence Faivre (7), Elise Fiala (10), William Gibson (11), Arnaud Isapof (12, 13), Tjitske Kleefstra (14), Ruth Newbury-Ecob (15), Robert M. Petrovich (16), jennifer propst (17), Julia Rankin (18), André Reis (19), John D. Roberts (20), Diana Rodriguez (21, 22), Justine Rousseau (23), Lawrence Shriberg (24), Motoki Takaku (16), Julien Thevenon (7), Paul A. Wade (25), Hannah Warren (26), Marcia Willing (27), Saskia B. Wortmann (28), Philippe M. Campeau (29)

1. CRMR des malformations et maladies congénitales du cervelet,CRMR déficiences intellectuelles de causes rares, Département de génétique et embryologie médicale, GH Trousseau, APHP, Paris, France
2. GRC ConCer-LD, Sorbonne Universités, UPMC Universités, Paris, France
3. Department of Human Genetics, Radboud University Medical Center, Nijmegen, Pays-Bas
4. Language and Genetics Department, Max Planck Institute for Psycholinguistics, Nijmegen, Pays-Bas
5. Département de Génétique, UF de Génomique du développement, GH Pitié-Salpêtrère, APHP, Paris, France
6. INSERM U1127, CNRS UMR 7225, ICM, Paris, France
7. Service de Génétique , CHU de Dijon, Dijon, France
8. Department of Medical Genetics, BC Children's Hospital Vancouver, Vancouver, Canada
9. Research Center, CHU Sainte-Justine , Sainte-justine, Canada
10. Division of Genetics and Genomic Medicine, Department of Pediatrics, Washington University School of Medicine, saint Louis, Etats-Unis
11. Department of Medical Genetics and Genomics, BC Children's Hospital Vancouver, Vancouver, Canada
12. Service de neuropédiatrie - Pathologie du développement, CRMR pathologies neuromusculaires, GH Trousseau, APHP, Paris, France
13. GRC ConCer-LD, Sorbonne Universités, Paris, France
14. Department of Human Genetics, Donders Institute for Brain, Cognition and Behaviour, Radboud University Medical Center, Nijmegen, Pays-Bas
15. Department of Clinical Genetics , University Hospital Bristol, Bristol, Royaume Uni
16. National Institute of Environmental Health Sciences, Research Trangle Park, Durham, Etats-Unis
17. Clinical Genetic Services, VCU Medical Center, Richmond, Etats-Unis
18. Department of Human Genetics, Royal Devon and Exeter NHS Trust, Exeter, Royaume Uni
19. Institute of Human Genetics, FAU Erlangen-Nürnberg, Erlangen, Allemagne
20. National Institute of Environmental Health Sciences, Research Triangle Park, Durham, Etats-Unis
21. Service de neuropédiatrie - Pathologie du développement, CRMR neurogénétique, GH Trousseau, APHP, Paris, France
22. GRC ConCer-LD, Sorbonne Universités, UPMC Université, Paris, France
23. Research Center, CHU Sainte-Justine , Sainte-Justine, Canada
24. Waisman center, University of Wisconsin-Madison, Madison, Etats-Unis
25. Epigenetics and Stem Cell Biology Laboratory , Research Trangle Park, Durham, Etats-Unis
26. Genetic Center, Greenwood Genetic Center , Greenwood, Etats-Unis
27. Division of Genetics and Genomic Medicine, Department of Pediatrics, St. Louis Children's Hospital, Saint-Louis, Etats-Unis
28. Department of Pediatrics, Salzburger Landeskliniken and Paracelsus Medical University, salzbourg, Autriche
29. Research Center, CHU Sainte-Justine University of Montreal, Montreal, Canada

Mots clefs : Gène CHD3, déficience intellectuelle, macrocéphalie, dysmorphie

Résumé :

La famille des protéines de liaison au chromodomaine hélicase de l'ADN (CHD) est essentielle au remodelage de la chromatine et utilise l'énergie issue de l'hydrolyse de l'ATP pour réguler la structure de la chromatine, modulant ainsi l'expression des gènes. Plusieurs gènes codant pour des protéines de cette famille ont été impliqués en pathologie humaine (*CHD2, CHD7, CHD8*) mais jamais *CHD3* jusqu'à présent. Nous rapportons ici une série internationale de 33 patients, constituée grâce à GeneMatcher, porteurs de variants *de novo* dans *CHD3,* identifiés par NGS. Tous les patients ont un retard de développement avec une hypotonie fréquente, une déficience intellectuelle légère à sévère et une atteinte marquée du langage. Les troubles du comportement sont fréquents. La plupart sont macrocéphales avec une dysmorphie reconnaissable avec un front haut et large, un hypertélorisme, un épicanthus, un œdème sus orbitaire, des fentes palpébrales étroites et un menton pointu. La plupart des variants sont des faux-sens et se situent dans le domaine ATPase/helicase ou à proximité. L'étude de l'impact fonctionnel de plusieurs de ces variants à l'aide de modèles cellulaires montre pour certains un impact sur l'activité ATPase. En conclusion, les variants du gène *CHD3* sont responsables d'un nouveau syndrome neuro-développemental reconnaissable.

Abstract CHD3.docx

CO065 : Les mutations tronquantes de novo du gène HNRNPR sont responsables d'un nouveau syndrome associant déficience intellectuelle, microcéphalie et agénésie/hypoplasie du corps calleux

Auteurs :

Ange-Line Bruel (1, 2), W. Alyson Maclnnes (3), Sébastien Moutton (1, 4), Frédéric Tran Mau-Them (1, 5), Floor AM Duijukers (6), Megan Cho (7), Roger L. Ladda (8), Zoe Powis (9), Yannis Duffourd (10, 5), Christophe Philippe (1, 5), Laurence Faivre (1, 11), Christel Thauvin-Robinet (1, 11)

1. FHU-TRANSLAD,INSERM UMR1231, Équipe GAD, Université Bourgogne-Franche Comté/CHU Dijon, Dijon, France
2. Unité Fonctionnelle Innovation en Diagnostic génomique des maladies rares, FHU-TRANSLAD, CHU Dijon Bourgogne, Dijon, France
3. Laboratory Genetic Metabolic Diseases, Academic Medical Center, Amsterdam, Pays-Bas
4. Centre de Référence Anomalies du Développement et syndromes malformatifs, centre de génétique, Université Bourgogne-Franche Comté/CHU Dijon, Dijon, France
5. Unité Fonctionnelle Innovation en Diagnostic génomique des maladies rares, CHU Dijon, Dijon, France
6. Department of Clinical Genetics, Academic Medical Center, Amsterdam, Pays-Bas
7. GeneDX, GeneDX, Gaithersburg, Etats-Unis
8. Department of Pediatrics, Penn State Hershey Children's Hospital, Hershey, Etats-Unis
9. Department of Clinical Genomics, Ambry Genetics, Aliso Viejo, Etats-Unis
10. FHU-TRANSLAD, Équipe EA42271 GAD, Université Bourgogne-Franche Comté/CHU Dijon, Dijon, France
11. Centre de Référence Anomalies du Développement et syndromes malformatifs, centre de génétique, CHU Dijon, Dijon, France

Mots clefs : Déficience intellectuelle, HNRNPR, microcéphalie, corps calleux

Résumé :

La déficience intellectuelle (DI) touche 1 enfant sur 250, de causes génétiques, acquises et/ou environnementales. Alors que les formes sévères sont le plus souvent d'origine monogénique, les formes moyennes et modérées sont souvent liées à une conjonction de facteurs génétiques et environnementaux. Les causes génétiques en sont multiples avec un vaste ensemble de maladies rares ou exceptionnelles. Plus de 500 gènes OMIM sont associés à des DI isolées et près de 2000 gènes à des DI syndromiques. Au cours de ces dernières années, les nouvelles technologies de séquençage haut-débit pan-génomique ont largement prouvé leur efficacité à identifier les bases moléculaires des pathologies rares avec une grande hétérogénéité clinique et génétique. 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 internationales a permis d'augmenter les chances d'identifier d'autres patients avec un phénotype similaire et de mettre en évidence de nouveaux syndromes.
Dans cette étude, nous rapportons le cas d'une patiente présentant une DI associée à une microcéphalie, une dysmorphie faciale, une brachydactylie, des pieds courts, ainsi qu'une hypoplasie du corps calleux. Un séquençage haut débit d'exome en trio a permis de mettre en évidence une mutation tronquante *de novo*, dans le gène *HNRNPR*. Trois patients additionnels ont été identifiés à la suite du partage des données par le réseau GeneMatcher. L'étude phénotypique a permis de retrouver des caractéristiques communes chez ces patients présentant tous une mutation tronquante sporadique du gène *HNRNPR*.
HNRNPR code pour une protéine de la superfamille des ribonucleo-protéines nucléaires (hnRNP) impliquées dans le métabolisme des acides nucléiques incluant le processus d'épissage, la stabilisation des ARNm ainsi que dans la régulation de la transcription et de la traduction. HNRNPR semble interagir spécifiquement avec les ARNm et impliqué dans des processus post-traductionnels. Le métabolisme des ARNm est particulièrement important pour le bon fonctionnement et la formation des synapses, ce qui explique que de nombreux gènes impliqués dans ce métabolisme sont associés à la DI. Les études fonctionnelles en cours sur les lignées cellulaires des patients permettront de mieux caractériser la fonction de la protéine HNRNPR et d'analyser l'impact des mutations tronquantes du gène *HNRNPR* dans le métabolisme des ARNm.
En conclusion, nous avons identifié un nouveau gène impliqué dans le métabolisme des ARNm, responsable de DI syndromique avec microcéphalie et agénésie/hypoplasie du corps calleux.

Assise_2018_AngeLine_HNRNPR.docx

CO066 : Les mutation de novo gain de fonction du régulateur épigénétique SMCHD1 abrogent le développement nasal dans le syndrome d'arhinie-microphtalmie de Bosma

Auteurs :

Jeanne Amiel (1), chris Gordon (2), Shifeng Xue (3), Gökhan Ygit (4), Hicham Fillali (5), Kelan Chen (6), Sabine Sigaudy (7), Christine Bole-Feysot (8), Patrick Nitschké (9), Hülya Kayserili (10), Haziz Sefiani (11), James Murphy (6), Frédérique Magdinier (12), Nicolas Lévy (7), Alex Hillmer (13), Duangrurdee Wattanasirichaigoon (14), Stanislas Lyonnet (1), Asif Javed (15), Marnie Blewitt (16), Bernd Wollnik (17), Bruno Reversade (3)

1. Laboratoire d'embryologie et génétique des malformations, Institut Imagine, Paris, France
2. Génétique, Institut Imagine, Paris, France
3. Institute of Molecular and Cell Biology, A*STAR, Singapore, Singapour
4. Institute of Human Genetics, University Medical Center , Gottingen, Allemagne
5. Laboratoire d'embryologie et génétique des malformations, Institut Imagine, Rabat, Maroc
6. Institute of Molecular and Cell Biology, The Walter and Eliza Hall Institute of Medical Research, Melbourne, Australie
7. Département de Génétique Médicale, Hôpital Timone Enfant, Assistance Publique - Hôpitaux de Marseille, Marseille, France
8. Platreforme de génomique, Institut Imagine, Paris, France
9. Plateforme de bio informatique, Institut Imagine, Paris, France
10. Department of Medical Genetics, Koç University, School of Medicine (KUSoM), Istanbul, Turquie
11. Département de Génétique Médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Maroc
12. Génétique Médicale et Génomique Fonctionnelle (GMGF), Aix Marseille Université, UMR S_910, Marseille, France
13. Cancer Therapeutics and Stratified Oncology, Genome Institute of Singapore,, Singapore, Singapour
14. Division of Medical Genetics, Department of Pediatrics, Faculty of Medicine Ramathibodi Hospital, Mahidol University, Bangkok, Thaïlande
15. Cancer Therapeutics and Stratified Oncology, Genome Institute of Singapore, Singapore, Singapour
16. Genetics department, The Walter and Eliza Hall Institute of Medical Research, Melbourne, Australie
17. Institute of Human Genetics, University Medical Center , Göttingen, Allemagne

Mots clefs : Génétique, développement, syndromologie, expansion phénotypique, gain de fonction

Résumé :

L'arhinie-microphtalmie (syndrome de Bosma, BAMS) est une anomalie de développement extrêmement rare et frappante caractérisée par l'absence complète de nez avec ou sans anomalie ophtalmologique. Nous rapportons ici des mutations faux-sens du gène *SMCHD1* (Structural Maintenance of Chromosomes flexible Hinge Domain containing 1) dans la totalité de 14 cas sporadiques d'arhinie-microphtalmie recrutés dans 6 pays. De manière remarquable, ces mutations sont confinées aux exons de *SMCHD1* codant pour le domaine ATP-ase élargi de ce régulateur épigénétique aux rôles pléiotropiques : inactivation du chromosome X, mécanismes d'empreinte génomique et réparation de cassures d'ADN double brin. Sans exception ces mutations sont survenues *de novo* chaque fois que les ADNs parentaux ont pu être testés.
Des analyses biochimiques et des tests dans le modèle d'embryons de Xénope suggèrent fortement que les mutations BAMS se comportent comme des allèles gain de fonction. Elles s'opposent ainsi à d'autres mutations *SMCHD1* identifiées dans la myopathie facio-scapulo-humérale de type 2 (FSHD2) faisant de cette situation un cas d'expansion phénotypique assez extrême (CT Gordon et al. Nat Genet 2017).
Nos résultats permettent d'établir que SMCHD1 est un acteur majeur du développement de la pyramide nasale et ont un impact sur la recherche de ses gènes cibles essentiels dans la régulation de la formation cranio-faciale, malgré la très petite fenêtre développementale de la placode nasale et de la vésicule optique. Par le biais de la pathologie moléculaire, ils contribuent aussi à une meilleure connaissance de cette protéine, notamment de sa fonction GHKL-ATPase, et des propriétés enzymatiques qui pourraient être, à rebours, exploitées dans le développement de traitements innovants de la myopathie facio-scapulo-humérale de type 2.

CO067 : L'activation de FGFR3 perturbe la ciliogenèse et le transport d'IFT20 dans des modèles cellulaires humain et murin d'achondroplasie

Auteurs :

Ludovic Martin (1), Nabil Kaci (1), Valentin Estibals (2), Nicolas Goudin (2), Meriem Garfa-Traoré (2), Catherine Benoist-Lasselin (2), Emilie Dambroise (2), Laurence Legeai-Mallet (2)

1. Institut Imagine, INSERM U1163, paris, France
2. Institut Imagine, INSERM U1163, Paris, France

Mots clefs : achondroplasie, FGFR3, cil primaire

Résumé :

Des mutations gain-de-fonction de FGFR3 (*fibroblast growth factor receptor 3*) sont responsables de plusieurs formes de nanisme telles que l'achondroplasie, forme la plus fréquente; ainsi que la forme létale, le nanisme thanatophore. L'activation constitutive de FGFR3 perturbe le processus normal de croissance des os du squelette. Dans les ciliopathies squelettiques, caractérisées par des anomalies des protéines ciliaires, on retrouve également des anomalies de la croissance osseuse. L'impact des mutations gain-de–fonction FGFR3 sur le cil primaire dans les chondrocytes de la plaque de croissance est inconnu dans l'achondroplasie et le nanisme thanatophore.
Nous avons étudié le cil primaire dans des chondrocytes humain et murin porteurs de mutations FGFR3. Nous démontrons que dans les chondrocytes de la plaque de croissance dans l'achondroplasie, le nanisme thanatophore et les souris *Fgfr3*$^{Y367C/+}$, la longueur du cil primaire était réduite et que la protéine IFT20 était anormalement localisée à la base du cil lorsque FGFR3 était activé. Nous montrons que l'inhibition de FGFR3 avec un inhibiteur des récepteurs tyrosine kinase (PD173074) rétablissait la longueur du cil primaire et la localisation de IFT20 au niveau de l'axonème du cil. Nous avons également étudié l'impact de la rapamycine, un inhibiteur de la voie mTOR, sur le cil primaire. L'inhibition de mTOR corrige positivement la longueur du cil primaire et la localisation intraciliaire d'IFT20. L'ensemble de ces résultats suggère que la désorganisation de la plaque de croissance observée dans l'achondroplasie et le nanisme thanatophore due au FGFR3 activé pourrait potentiellement être attribuée au cil primaire. En conclusion, les chondrodysplasies liées à des mutations FGFR3 semblent être une nouvelle forme de pathologie squelettique avec une ciliogenèse défectueuse.

Assises génétique Martin L 9 oct 2017.docx

CO068 : Les RASopathies : étude clinique et génétique de 27 patients tunisiens

Auteurs :

Hana Safraou (1), lilia Kraoua (2), Nahla Ghdira (3), Ines Ouertani (2), Rym Meddeb (2), Madiha Trabelsi (2), Faouzi Maazoul (2), Ridha M'RAD (1)

1. Service des maladies congénitales et héréditaires, Hôpital Charles Nicolle de Tunis , Tunis, Tunisie
2. service des Maladies Congénitales et Héréditaires , Hôpital Charles Nicolle de Tunis , Tunis, Tunisie
3. Unité de recherche : Épidémiologie, étiopathogénie et thérapeutique des malformations congénitale du centre Tunisien, Faculté de Médecine de Monastir, Monastir, Tunisie

Mots clefs : Syndrome de Noonan, Syndrome cardio-facio-cutané, Syndrome de Costello, Voie RAS, séquençage de nouvelle génération

Résumé :

Les RASopathies est un groupe de pathologies autosomiques dominantes dues à des mutations des gènes de la voie RAS/MAPK. Ce mécanisme moléculaire commun est à l'origine d'une continuité phénotypique entre les RASopathies. Le syndrome de Noonan (SN) est la RASopathie la plus fréquente (1/1000 à 1/2500). Le syndrome cardio-facio-cutané (CFC) et le syndrome de Costello (SC) sont des RASopathies moins fréquentes mais plus sévères.
En Tunisie, les caractéristiques cliniques et génétiques des RASopathies sont peu étudiées.
L'objectif de notre travail était d'analyser le profil clinique et génétique des RASopathies chez une série de patients tunisiens et d'établir une corrélation génotype-phénotype.
Nous avons mené une étude descriptive rétrospective des patients suivis pour SN, syndrome CFC et SC au service des Maladies Congénitales et Héréditaires de l'hôpital Charles Nicolle de Tunis sur une période de 10 ans (2006 à 2016). Les critères d'inclusion étaient cliniques basés sur des scores objectifs. L'étude moléculaire a été réalisée par séquençage de type Sanger et par séquençage de nouvelle génération (NGS) des gènes impliqués dans les RASopathies.
Vingt-sept patients atteints de Rasopathies ont été inclus dans notre étude dont 25 cas sporadiques et un cas familial. La majorité des patients (21/27) avaient un SN. 5/27 patients avaient un syndrome CFC et 1/27 patient avait un SC. L'âge moyen des patients au moment du diagnostic était de 10 ans. Tous les signes cardinaux des Rasopathies ont été retrouvés à savoir : le retard statural postnatal (85%), la dysmorphie faciale typique (85%), la cardiopathie (81%) avec une prédominance de la sténose pulmonaire valvulaire, les atteintes cutanées (85%), les malformations typiques du sternum (48%) et le retard psychomoteur (63%). Des signes moins fréquents ont été retrouvés à savoir : la cryptorchidie (5/10 des patients de sexe masculin), le retard pubertaire (4/7 adultes), la scoliose (4/27), le strabisme (4/27), la myopie (5/27) et la surdité (1/27). Aucun patient n'a développé de tumeur maligne ni bénigne.
L'étude moléculaire a confirmé le diagnostic chez 17/21 patients testés : 13/17 cas de SN dont un cas de syndrome de Noonan avec lentigines multiples, 3/3 cas de CFC, 1/1 cas de SC. Les gènes mutés étaient par ordre de fréquence : *PTPN11* (6/17), *SOS1* (3/17), *RIT1* (2/17), *MEK1* (2/17), *RAF1* (1/17), *BRAF* (1/17), *NRAS* (1/17) et *HRAS* (1/17).
Chez 2/21 patients testés des mutations nouvelles ont été identifiées dans des gènes récemment décrits dans le SN : *LZTR1* et *KAT6B*. Dans les 2 cas restants, aucune mutation n'a été identifiée.
Le spectre clinique et génétique des RASopathies dans notre population sont similaires à ceux des autres populations. Une meilleure connaissance de ces pathologies et l'application des techniques de NGS dans le diagnostic de routine permettront un diagnostic rapide des RASopathies, une prise en charge adaptée et un conseil génétique adéquat.

Les RASopathies assises 2018 abstract.docx

CO069 : Informer et consentir à une consultation de génétique et aux résultats des prélèvements réalisés : quels outils pour les patients avec une déficience intellectuelle ?

Auteurs :

Françoise HOUDAYER (1), Anne Sophie LAPOINTE (2, 3), Alice GOLDENBERG (4), Anne-Marie GUERROT (4), Lorraine JOLY (5), Christine JUIF (5), Jacqueline LONDON (6), Frédéric MEUNIER (7), Isabelle MARCHETTI-WATERNAUX (8), Sandrine DAUGY (9), Laurence FAIVRE (10, 5), Damien SANLAVILLE (11, 12), Patrick EDERY (11, 13), Massimiliano ROSSI (14, 15), Bruno LE MAIRE (16)

1. Génétique clinique, Hospices civils de Lyon, BRON, France
2. Alliance Maladies Rares, CHU Dijon, Paris, France
3. Filière AnDDI-Rares, CHU Dijon, Dijon, France
4. Service de génétique Centre Normand de Génomique Médicale et Médecine Personnalisée Centre de Référence Anomalies du développement et Syndromes Malformatifs , CHU Rouen, Rouen, France
5. Centre de Référence Anomalies du Développement, CHU Dijon, Dijon, France
6. Association Française pour la Recherche sur la Trisomie 21, Paris, Paris, France
7. Association Française du Syndrome Phelan-McDermid, Chenevelles, Chenevelles, France
8. Association Valentin APAC, Eragny sur Oise, Eragny sur Oise, France
9. Association Génération 22, Paris, Paris, France
10. FHU TRANSLAD, CHU Dijon, Dijon, France
11. Génétique Clinique , HCL Lyon, LYON, France
12. INSERM U1028 CNRS UMR5292 CNRL GENDEV Team , HCL Lyon, Bron, France
13. INSERM U1028 CNRS UMR5292 CNRL GENDEV Team , Université Claude Bernard Lyon 1 , LYON, France
14. Centre de Référence Anomalies du Développement, HCL Lyon, LYON, France
15. INSERM U1028 CNRS UMR5292 CNRL GENDEV Team , Université Claude Bernard Lyon 1 , Bron, France
16. UNAPEI, Paris, Paris, France

Mots clefs : Information, consentement éclairé, déficience intellectuelle, éthique, diagnostic.

Résumé :

Six centres de référence répartis sur 24 sites et 17 centres de compétences sont actuellement labellisés anomalies du développement et syndromes malformatifs en France. Ils assurent, au sein de services de génétique clinique, l'expertise diagnostique, le suivi et la coordination des prises en charge multidisciplinaires, le conseil génétique familial et le DPN. Ce vaste champ clinique regroupe des enfants et des adultes qui présentent des syndromes dysmorphiques et polymalformatifs avec ou sans déficience intellectuelle.
Les consultations d'expertise diagnostique sont souvent longues, très informatives et font référence à des notions complexes et abstraites pour des non spécialistes (chromosomes, gènes, mutation…). Ces informations sont déjà difficiles d'accès pour les parents des patients, mais bien plus encore pour les très jeunes enfants ou les patients avec déficience intellectuelle. Il est pourtant essentiel d'essayer dans la mesure du possible d'associer les patients mineurs ou majeurs protégés à ces processus d'information et de prise de décision. C'est tout d'abord fondamental d'un point de vue éthique. De plus, les textes nous l'imposent : la loi du 11 février 2005 place la personne en situation de handicap au cœur du dispositif d'accompagnement et les articles 9 et 25 de la Convention des Nations Unies relative aux droits des personnes handicapées rappellent l'importance de rendre la communication et les informations accessibles pour les personnes qui présentent un handicap intellectuel.
Dans le contexte des anomalies du développement, et en partenariat avec des associations de malades (l'Unapéi, l'AFRT, Valentin-Apac, l'Association Française du syndrome Phelan-McDermid, Génération 22), nous avons réfléchi à la création de documents adaptés à destination des patients présentant une déficience intellectuelle légère. Nous proposons deux fiches en langage Facile A Lire et à Comprendre (FALC) en référence à l'édition des règles européennes portées par l'Unapéi (Union nationale des Associations de parents, de personnes handicapées mentales et de leurs amis). Basées sur la présentation imagée et donc concrète de pictogrammes, l'une d'elle présente le déroulé d'une consultation de génétique et l'autre l'annonce d'un résultat positif. Elles sont actuellement en cours d'expérimentation sur Lyon et Rouen. De plus en plus utilisée dans le milieu médico-social auprès de personnes avec déficience intellectuelle, la communication améliorée et alternative – CAA – (associant gestes, pictogrammes, synthèse vocale, …) nous est apparue comme plutôt innovante dans le milieu hospitalier. Mieux informé, mieux préparé, le patient sera potentiellement moins angoissé, plus coopérant et plus à même d'être en capacité de faire un choix pour aller vers une décision médicale partagée. L'enjeu éthique pour les équipes pluridisciplinaires des centres de référence de la filière AnDDI-Rares est de rendre accessible le maximum d'information à tous les patients.

06.10.2017 FALC - Houdayer - Lapointe - ASSISES 2018.docx

CO070 : Evaluation des pratiques professionnelles (EPP): Perception de l'entretien psychologique systématique dans le cadre du diagnostic présymptomatique (DPS) du point de vue des patients

Auteurs :

Caroline Jacquot-Sawka (1), Amandine Baurand (1), Lorraine Joly (2), Elodie Gautier (3), Geoffrey Bertelone (1), Christel Thauvin-Robinet (3, 4), Laurence Faivre (3, 2)

1. Centre de Génétique, CHU Dijon, Dijon, France
2. Centre de référence Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs, CHU Dijon, Dijon, France
3. FHU TRANSLAD, CHU Dijon, Dijon, France
4. UMR 1231 équipe GAD, Génétique des Anomalies du Développement, Université de Bourgogne Franche-Comté, Dijon, France

Mots clefs : Diagnostic présymptomatique, entretien psychologique, évaluation des pratiques professionnelles

Résumé :

L'identification croissante des bases moléculaires de prédispositions génétiques aux cancers, aux maladies cardiaques héréditaires, 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 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 de Dijon a fait le choix d'inclure systématiquement un entretien psychologique à ce protocole, proposé le plus souvent entre la consultation d'information auprès du généticien ou du conseiller en génétique, et celle 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 mené à évaluer la perception de cet entretien psychologique systématique de la part des patients dans le cadre d'une EPP. Dans ce but, de 02/2014 à 05/2016, 2 questionnaires anonymisés ont été remplis par les patients majeurs, le 1er à l'issue de la consultation d'information, et le 2nd rempli à domicile après l'entretien psychologique. 126 patients ont participés, avec une forte proportion de patients adressés pour DPS suite à l'identification d'une mutation BRCA dans la famille (50%), expliquant une grande majorité de femmes répondantes (69%). Les autres pathologies concernées étaient d'autres prédispositions génétiques au cancer (32%), des pathologies neurogénétiques (9%) ou cardiogénétiques (9%). Dans 46% des cas, le patient avait été informé par sa famille sur la démarche de DPS comprenant un entretien psychologique, avant la consultation du déroulé. Dans 20% des cas, l'entretien psychologique a été discuté ou refusé d'emblée par le patient. Avant l'entretien psychologique, 30% des répondants jugent cet entretien indispensable, 53% utile, 17% sans intérêt. Toutes les personnes qui jugeaient cet entretien indispensable avant la consultation mentionnent le même avis après l'entretien. Par contre, 52% 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.

CO071 : L'évolution du métier de conseiller en génétique avec l'arrivée des nouvelles technologies de séquençage en génétique.

Auteurs :

Amandine BAURAND (1), Caroline SAWKA (1), Geoffrey BERTOLONE (1), Marion ROBERT (1), Amandine CADENES (2), Myrtille SPENTCHIAN (3), Francoise HOUDAYER (2), Damien SANLAVILLE (2), David GENEVIEVE (4), Nicole PHILIP (5), Marie-Antoinette VOELCKEL (5), Christel THAUVIN (1), Laurence FAIVRE (1)

1. Centre de génétique et Centre de référence maladies rares et anomalies du développement et syndromes malformatifs, CHU Dijon, DIJON, France
2. Génétique médicale CLAD Centre Est, CHU LYON, LYON, France
3. Service de génétique clinique, Hôpitaux Universitaires Pitié Salpêtrière - Charles Foix, PARIS, France
4. Génétique médicale CLAD Sud Languedoc-Roussillon, CHU Montpellier, MONTPELLIER, France
5. Génétique médicale CLAD Sud-Méditerrannée, CHU Marseille, MARSEILLE, France

Mots clefs : Nouvelles technologies, conseiller en génétique, évolution métier

Résumé :

Les progrès de la technologie dans le domaine de la génétique et notamment l'arrivée des nouvelles plateformes de séquençage à très haut débit promettent de fournir des données génomiques à large échelle et à faible coût. À l'avenir, les tests génomiques dans le cadre de la médecine générale pourraient permettre une prédiction plus large et plus efficace du risque, de la gestion des maladies et de la personnalisation du traitement pour les cas fréquents comme pour les cas les plus rares. Le développement de ces nouvelles technologies va entraîner une augmentation massive de la demande des tests génétiques mais également du délai de prise en charge globale du patient comprenant entre autre le recueil des données, l'information et le consentement, le prélèvement, la bioinformatique, l'interprétation, le rendu de résultat et la gestion clinique post-test et post-résultat des patients. L'arrivée des plateformes de médecine génomique présente donc, en plus d'une réflexion éthique majeure, un défi important nécessitant très probablement une restructuration de l'organisation des traditionnels et historiques services de génétique. Il est notamment prévu que les tests génomiques soient de plus en plus utiles dans un large éventail de spécialités médicales. Il se posera notamment la question, afin de ne pas engorger les services de génétique et donc d'augmenter de façon acceptable les délais de consultations, qu'ils soient éventuellement prescrits par les médecins spécialistes non généticiens. Ces tests de médecine génomique entraînent pourtant de nouvelles difficultés et notamment de nombreuses connaissances techniques spécifiques à la génétique mais également une formation concernant la transmission des informations aux patients rendant donc très discutable la banalisation de la prescription de ces tests. La mise en place de ce nouveau service exigera donc une réorganisation des professionnels impliqués dans le domaine de la génétique notamment les conseillers en génétique qui y ont depuis plusieurs années une place importante. Les rôles et activités du conseiller en génétique seront donc également bousculés par ces nouvelles technologies et l'évolution de ce métier est incontestable. Il sera présenté les premiers éléments de réflexions, issus d'une enquête auprès des généticiens et des conseillers en génétique, ainsi que d'une revue de la littérature des pays déjà engagés dans la médecine génomique. Il est important que ces bases permettent une démarche nationale d'anticipation de ce futur finalement proche.

Abstract A. BAURAND.doc

CO072 : En quoi une approche multidisciplinaire est-elle pertinente pour étudier les pratiques médicales lors d'une prescription d'un examen des caractéristiques génétiques d'une personne ?

Auteurs :

laurent PASQUIER (1, 2), Guy MINGUET (3), Pascal JARNO (4), Anne-Sophie LAPOINTE (5, 6), Ginette VOLF (7), Anne PRESTEL (8), Sylvie MOISDON-CHATAIGNER (9), Philippe DENIZEAU (1), Sylvie ODENT (10), Grégoire MOUTEL (11)

1. Service de Génétique Clinique, Hôpital Sud, CHU Rennes, Rennes, France
2. Filière DEFISCIENCE, CHU Rennes, Rennes, France
3. Département de sociologie, IMTA, Nantes, France
4. Pôle de santé publique, CHU Rennes, Rennes, France
5. , Alliance Maladies Rares, Paris, France
6. Filière AnDDI-Rares, Necker - Enfants Malades, Paris, France
7. , Alliance Maladies Rares, Rennes, France
8. Réseau GEM-HUGO, Hôpital Sud, CHU Rennes, Rennes, France
9. Faculté de Droit, Université Rennes 1, Rennes, France
10. Service de génétique clinique, CLAD Ouest, Hôpital Sud, CHU Rennes, Rennes, France
11. Médecine légale, Droit de la santé et éthique médicale , CHU Caen, Caen, France

Mots clefs : Examen des caractéristiques génétiques (ECGP), droits de la personne, multidisciplinarité

Résumé :

Dans un contexte d'augmentation constante du nombre d'examens des caractéristiques génétiques d'une personne (ECGP) dans toutes les disciplines médicales, le développement de la médecine génomique vient d'être renforcé par un soutien ministériel avec la désignation des deux premières plateformes de séquençage haut-débit (Plan France Médecine Génomique [PFMG] 2025).
Pourtant, la pratique de la médecine génomique est caractérisée par un décalage important entre l'essor technologique de la connaissance du génome et les applications concrètes dans la pratique médicale, pour le diagnostic, les soins, et la prévention.
Par ailleurs, la génétique médicale et l'ECGP, de par leurs spécificités en termes d'informations aux apparentés (risque héréditaire) ou de possibilités d'examens prédictifs (risque discriminatoire), sont également caractérisés par un encadrement juridique contraignant (loi du 7 juillet 2011 relative à la bioéthique et ses décrets d'application) ainsi que de recommandations de bonnes pratiques.
Selon une étude préliminaire auprès de médecins généticiens et non généticiens, nous montrons l'intérêt d'une approche multidisciplinaire (médecin, juriste, sociologue, représentant d'une association de patient) pour décrypter les enjeux multiples liés à la mise en œuvre d'un ECGP. Ainsi, nous avons identifié des enjeux médicaux, sociologiques et juridiques. S'ils ne sont pas appréhendés par le médecin prescripteur, ces enjeux pourraient devenir sources de tensions entre médecins ou dans le trio médecin-patient-famille.
Nous avons débuté une étude inter-régionale (ORGAGENE), financée par l'Agence de la Biomédecine, afin d'explorer ces pratiques auprès de médecins non généticiens qui vont devenir des acteurs importants de cette prescription. Il est également essentiel d'étudier auprès des patients, la façon dont ils perçoivent la proposition de la réalisation d'un ECGP.
Cette analyse croisée entre pratiques des professionnels et attentes des patients, doit permettre de mieux comprendre les conditions d'usage de l'ECGP pour, à terme :
- Identifier les facteurs qui permettraient d'adapter les outils de formation initiale et continue vers l'ensemble des médecins prescripteurs de tests génétiques pour une optimisation de cet acte médical particulier,
- Répondre à une préconisation du PFMG visant à mener une analyse fine des vécus de tous les acteurs concernés dans un objectif d'évolution des bonnes pratiques.

Abstract Assises ORGAGENE LP 2018.docx

CO073 : Evaluation sur 1012 patients de l'intérêt médico-économique des entretiens téléphoniques de préparation avant la consultation en oncogénétique

Auteurs :

Gaelle Collet (1), Nathalie Parodi (1), Kevin Cassinari (1), Zoe Neviere (2, 1), Fanny Cohen (2), Celine Gasnier (2), Francois Lecoquierre (1), Afane Brahimi (1), Jean-Christophe Thery (3, 1), Isabelle Tennevet (3, 1), Elodie Lacaze (4), Pascaline Berthet (2), Thierry Frebourg (5)

1. Département de Génétique, Centre Normand de Médecine Génomique et Personnalisée, CHU de Rouen, Rouen, France
2. Département de Biopathologie Oncogénétique Clinique, Centre François Baclesse, Centre Normand de Médecine Génomique et Personnalisée, CLCC de Caen, Caen, France
3. Service d'Oncologie Médicale, Centre Henri Becquerel, Centre Normand de Médecine Génomique et Personnalisée, CLCC de Rouen, Rouen, France
4. Service de Génétique, Centre Normand de Médecine Génomique et Personnalisée, CH du Havre, Le Havre, France
5. Département de Génétique, CHU de Rouen et Inserm U1245, Normandie Univ, Centre Normand de Génomique et de Médecine Personnalisée, Rouen, France

Mots clefs : Conseil génétique, oncogénéticien, entretien téléphonique de préparation, routage, cancer du sein, cancer de l'ovaire, analyse génétique, évaluation médico-économique

Résumé :

L'un des principaux défis en oncogénétique est de répondre à la demande exponentielle de consultations, particulièrement dans le cadre des cancers du sein et de l'ovaire, compte tenu de l'impact majeur de l'identification d'une mutation en termes de stratégie thérapeutique et de conseil génétique. Nous avions présenté en 2016 la mise en place d'une nouvelle procédure, dont nous présentons l'évaluation médico-économique réalisée sur 1012 patients. Cette nouvelle stratégie est basée sur des entretiens téléphoniques de préparation de consultation (ET) suivis d'un "routage" des pré-dossiers: (1) J1, demande de RDV auprès du secrétariat qui collecte les informations minimum et fixe un RDV d'ET de 20 min, dans les 14 jours; (2) J7-14, ET réalisé par un conseiller en génétique, permettant de compléter un pré-dossier, *via* un questionnaire structuré; (3) J10-17, routage basé sur l'analyse des pré-dossiers par un oncogénéticien avec 3 conclusions possibles : (i) consultation prioritaire par un oncogénéticien car impact thérapeutique (mastectomie partielle/totale, radiothérapie, traitement par inhibiteur de PARP) ou contexte psychologique difficile; (ii) consultation justifiée mais non prioritaire, effectuée par un conseiller en génétique (la consultation de résultat étant faite par un médecin); ou (iii) pas d'indication retenue de consultation et/ou existence d'un cas index plus approprié dans la famille. Dans le cadre du cancer du sein et/ou de l'ovaire, 1012 patients ont bénéficié de cette procédure dans notre centre. Après routage, nous avons considéré que la consultation et l'analyse génétique étaient non justifiées chez 396 patients (39,1%), en raison de l'absence d'antécédents personnels et/ou familiaux évocateurs pour 304 patients (30%) ou en raison de l'existence d'un cas index plus approprié dans les familles de 92 patients (9,1%). Parmi les 616 patients restants, 85 (8,4%) ont bénéficié d'une consultation prioritaire fixée dans les 8 semaines et 531 (52,5%) d'une consultation prioritaire dont le délai moyen a été maintenu à 18 semaines. Les ressources humaines nécessaires pour 1012 patients ont été estimées à 0.12 ETP de secrétaires, 0.62 ETP de conseillers en génétique et 0.08 ETP d'oncogénéticiens. L'économie réalisée grâce à cette procédure sur environ 1000 patients a été évaluée à 30506 €, à 18480 € et à 3892 €, par rapport à des consultations réalisées respectivement par des oncogénéticiens uniquement, par des oncogénéticiens et/ou des conseillers en génétique, ou par des conseillers en génétique uniquement. Cette nouvelle procédure permet de supprimer plus de 1/3 des consultations, tout en assurant une expertise médicale pour l'ensemble des dossiers et une consultation individuelle avant l'analyse génétique, garantit une prise en charge prioritaire des consultations ayant un impact thérapeutique et optimise les interactions et la répartition des tâches entre conseillers en génétique et oncogénéticiens.

Collet et al.doc

CO074 : Echange inter laboratoire de fichiers .vcf : un premier pas vers l'harmonisation des étapes de filtration et de l'interprétation biologique des données de séquence haut débit

Auteurs :

Nicolas CHATRON (1, 2), Amélie PITON (3, 4), Wilfrid CARRE (5, 6), Christèle DUBOURG (5, 6), Bénédicte GERARD (3), Pascale SAUGIER-VEBER (7)

1. Service de génétique, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
2. Equipe GENDEV, CRNL, INSERM U1028, , CNRS UMR5292, UCBL1, Lyon, France
3. Laboratoires de diagnostic génétique, Institut de Génétique Médicale d'Alsace, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
4. Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire, IGBMC, Illkirch, France
5. Service de Génétique Moléculaire et Génomique, CHU Rennes, Rennes, France
6. IGDR, CNRS UMR 6290, Université de Rennes 1, Rennes, France
7. Département de Génétique, CHU de Rouen, Centre Normand de Génomique et de Médecine Personnalisée, Rouen, France

Mots clefs : NGS, qualité, échange inter-laboratoire, déficience intellectuelle, panel, exome

Résumé :

Sous l'impulsion de l'ANPGM et avec le soutien des filières de soins maladies rares AnDDi-Rares et DéfiScience, se tiennent plusieurs fois par an des visioconférences nationales visant à l'échange des connaissances et des bonnes pratiques sur l'analyse de données de séquençage haut débit dans le diagnostic étiologique de la déficience intellectuelle (DI). Dans un souci d'amélioration et d'harmonisation des pratiques selon la norme ISO15189, **il est apparu pertinent de mettre en place des échanges inter-laboratoire** (CIL) sur ces données de séquençage haut débit. Deux types de données peuvent être ainsi échangés : les données de fastq, permettant de vérifier la qualité du pipeline bioinformatique, et des données .vcf, permettant de contrôler les étapes d'analyse et d'interprétation des données par les biologistes. Dans le travail rapporté, le CIL mis en place concerne les données .vcf.
Les stratégies diagnostiques pour la DI en France sont diverses : 10 laboratoires utilisent le petit panel DI-44 correspondant à la liste minimale de 44 gènes de DI analysée dans chacun des laboratoires, 5 analysent de grands panels de plus de 200 gènes et 3 ont choisi de séquencer l'exome au titre du diagnostic. Six dossiers, tous conclus avec au moins un variant de classe 4 ou 5, ont été sélectionnés : 2 analyses en simplex de panel DI-44, 2 analyses en simplex de panel DI-450 et 2 analyses d'exome clinique en trio. Le set des 6 analyses a d'abord été validé par deux laboratoires indépendamment afin de vérifier la concordance des résultats obtenus. Un résumé des données cliniques ayant motivé la demande de l'analyse et un fichier .vcf non annoté ont été mis à disposition pour les laboratoires souhaitant participer à cet échange interlaboratoire. Un formulaire de réponse en ligne est complété par chaque laboratoire participant.
Ce CIL est donc localisé **en aval du pipeline** bioinformatique : son objectif principal est de tester l'efficacité de la stratégie d'analyse des variants mise en place par les participants dans leur laboratoire (sources d'annotation des variants, critères de filtration, critères d'interprétation). L'objectif secondaire de ce CIL est d'évaluer la faisabilité de l'analyse de .vcf produits par d'autres laboratoires, ce qui va devenir une pratique courante avec le déploiement du Plan France Médecine Génomique 2025. Les résultats, attendus pour novembre 2017, seront présentés lors du congrès.
Ce travail permet de comparer l'efficacité des stratégies employées par les laboratoires français pour détecter les variants de classe 4 et 5 et ainsi aboutir au diagnostic moléculaire dans le cadre de la DI. Il constitue un point d'étape en vue de l'harmonisation des pratiques nécessaires à une prise en charge homogène des patients. Il s'inscrit dans l'objectif de rédaction de recommandations françaises d'analyse et interprétation des données NGS en amont du **Plan France Médecine Génomique 2025**.

Assises-abstract-echange-vdef1.docx

CO075 : Méthodologie d'élaboration des parcours de soin maladies rares pour la plateforme AURAGEN

Auteurs :

Consortium AURAGEN (1), Julien Thevenon (2), Damien Sanlaville (3)

1. GCS AURAGEN, GCS AURAGEN, Grenoble, France
2. Centre de génétique, CHU Grenoble-Alpes, Grenoble, France
3. Centre de génétique, HCL, Lyon, France

Mots clefs : Séquençage de génome, diagnostic des maladies rares, parcours de soin

Résumé :

Dans le cadre du plan France Médecine Génomique 2025, la plateforme AURAGEN proposera dès la fin de l'année 2018 des examens de séquençage pan-génomique pour le diagnostic de maladies rares. L'organisation de cette plateforme représente un processus multi-étapes. En particulier, les définitions des indications et du rendu de résultat des interprétations d'examens sont floues. Dans l'attente de la mise en place du support d'institutions nationales, nous proposons une méthodologie de définition de ces deux points critiques du fonctionnement de la plateforme AURAGEN, synergique des filières de santé maladies rares.

Concernant les indications, nous demandons aux différentes filières de santé maladies rares de nous fournir des arbres décisionnels validés comprenant le positionnement du séquençage d'exomes et de génomes ainsi que les modalités de réalisation (cas-index, trio…). En lien avec l'UNESS, un questionnaire d'informations et une session de formation continue seront proposés à chaque nouveau prescripteur. L'inscription du dossier du patient dans une RCP d'interprétation sera demandée dès la prescription.

Concernant le périmètre de l'interprétation, la plateforme AURAGEN rendra des résultats biologiques validés sous la forme d'une courte liste de variations d'intérêt médical. Nous proposons un support à l'interprétation par le cumul d'une curation bioinformatique et par l'avis de généticiens expérimentés proposant une classification des variations sélectionnées. L'interprétation finale et la validation diagnostique seront réservées à l'équipe du centre prescripteur. Dans les nombreuses situations où l'interprétation de variations seront complexes, le centre prescripteur pourra avoir recours à une RCP d'interprétation mise en place par la filière de santé maladies rares prenant en charge le groupe de maladies étudié.

Nous présenterons une mise en pratique de l'interface web de formation, de prescription, le formulaire de saisie d'informations cliniques et le format de rendu des résultats aux prescripteurs.

CO076 : Listes de gènes nationales consensuelles pour le diagnostic génétique de myopathies par NGS établies par la filière FILNEMUS

Auteurs :

Martin Krahn (1, 2), Valérie Biancalana (3), Laurence Michel-Calemard (4), Juliette Nectoux (5), France Leturcq (5), Céline Bouchet-Séraphin (6), Cécile Bourdain-Acquaviva (7), Mathieu Cerino (1, 8), Emmanuelle Campana-Salort (9), Annamaria Molon (9), Jon Andoni Urtizberea (10), Jean Pouget (9), Roseline Froissart (7), John Rendu (11), François Petit (12), Corinne Metay (13), Nathalie Seta (14), Damien Sternberg (13), Julien Fauré (11), Mireille Cossée (15, 16)

1. GMGF INSERM-AMU UMRS910, Aix Marseille Université, Marseille, France
2. Département de Génétique Médicale, APHM, Marseille, France
3. Laboratoire de diagnostic génétique, CHU de Strasbourg - Hôpital Civil, Strasbourg, France
4. Service d'Endocrinologie Moléculaire et Maladies Rares, Centre de Biologie et Pathologie Est - CHU de Lyon HCL , Bron, France
5. Service de Biochimie et Génétique Moléculaire, Hôpital Cochin / APHP, Paris, France
6. Département de Génétique, Hôpital Bichat Claude Bernard / APHP, Paris, France
7. Service Maladies Héréditaires du Métabolisme et Dépistage Néonatal, Centre de Biologie et Pathologie Est - CHU de Lyon HCL , Lyon, France
8. Département de Génétique Médicale, APHM, Marseille, France
9. Centre de référence des maladies neuromusculaires et de la SLA, APHM, Marseille, France
10. Hôpital Marin Centre Neuromusculaire GNMH , APHP, Hendaye, France
11. Biochimie Génétique et Moléculaire, Hôpital Michallon / CHRU de Grenoble, Grenoble, France
12. Laboratoire de Génétique moléculaire, GH Antoine Béclère / APHP, Clamart, France
13. Centre de génétique moléculaire et chromosomique , Hôpital Pitié-Salpêtrière / APHP, Paris, France
14. Département de Génétique Médicale, Hôpital Bichat Claude Bernard / APHP, Paris, France
15. Laboratoire de Génétique moléculaire, CHRU Montpellier, Montpellier, France
16. Laboratoire de Génétique de maladies rares, Université de Montpellier, Motpellier, France

Mots clefs : NGS, FILNEMUS, Consensus National

Résumé :

Plus de 200 gènes ont été impliqués à ce jour dans des myopathies monogéniques. Comme pour les autres champs de la génétique, l'implémentation du séquençage de nouvelle génération (NGS) a révolutionné le diagnostic génétique dans le domaine des myopathies, notamment par la transition des analyses classiques par séquençage Sanger vers des approches NGS majoritairement de type « panel de gènes ». Ceci a permis une augmentation du rendement diagnostique, mais généré sur le plan international et national une disparité importante des stratégies diagnostiques en raison d'une grande diversité de panels de gènes de myopathies utilisés, complexifiant la visibilité pour les cliniciens prescripteurs (*« Quelle prescription d'analyses génétiques pour quelle indication, et où puis-je envoyer l'échantillon de mon patient atteint de myopathie ? »*).
Nous avons abordé cette problématique sur le plan national depuis 2016 dans le cadre du Sous-groupe Génétique Moléculaire / Commission Outils diagnostiques, de notre Filière de Santé des Maladies Rares Neuromusculaires FILNEMUS.
Une concertation des neufs laboratoires hospitaliers impliqués dans cette thématique en France a permis de retenir des points clés essentiels pour une homogénéisation nationale du diagnostic génétique de myopathies par NGS. Une stratégie diagnostique consensuelle a été définie sur la base de 14 portes d'entrée cliniques, associées respectivement à la détermination soit de « listes de gènes uniques », ou de « listes de gènes principaux (Core genes) » associées à des « listes de gènes exhaustives ». Cette stratégie a été validée par un groupe d'expert cliniciens, et est actuellement en cours de mise en place par les laboratoires hospitaliers impliqués, qui déclareront les listes analysées sur le site www.filnemus.fr afin de clarifier l'offre diagnostique et d'expertise nationale. Cette homogénéisation permettra par ailleurs un échange de données inter-laboratoires, notamment pour une classification consensuelle de variants. Une actualisation annuelle des listes de gènes est prévue, ainsi qu'une intégration dans des arbres décisionnels actuellement en cours de réalisation dans la filière FILNEMUS. Par ailleurs, un lien étroit a été établi entre les actions spécifiques de FILNEMUS en faveur de l'homogénéisation nationale du diagnostic génétique de myopathies par NGS, et des actions transversales menées par l'ANPGM et le Réseau NGS-DIAG.

Krahn et al Liste de gènes nationales FILNEMUS.docx

CO077 : Recommandations européennes pour la prise en charge de la mort subite cardiaque

Auteurs :

Florence Fellmann (1, 2)

1. Médecine Génétique, CHUV, Lausanne, Suisse
2. Centre National de Génétique, Laboratoire National de Santé, Dudelange, Luxembourg

Mots clefs : Mort subite cardiaque; autopsie; analyses génétiques

Résumé :

En novembre 2016, le PPPC de l'ESHG a organisé un workshop interdisciplinaire à la Fondation Brocher sur les aspects éthiques, juridiques et pratiques (y compris économiques) de l'analyse génétique post mortem dans les cas de mort subite d'origine cardiaque chez les jeunes adultes, réunissant des membres du PPPC et 12 experts en médecine forensique, en cardiologie, en génétique et en droit d'Europe et du Canada.
Les tests génétiques post-mortem peuvent être pertinents pour des raisons médicales (par exemple, identifier les causes de décès, recommander des stratégies de prévention pour les parents survivants), ainsi que pour des raisons de santé publique ou de recherche. Bien que les procédures d'autopsie soient disponibles, celles-ci intègrent mal les tests génétiques post-mortem. L'objectif de l'atelier était de remédier au manque de coordination entre le domaine judiciaire et médical et les réglementations respectives en rédigeant des recommandations.
Cette présentation abordera les défis des tests génétiques post-mortem et l'utilisation des résultats à des fins médicales.
Une liste de recommandations sera présentée pour améliorer la communication et l'harmonisation entre les professionnels impliqués dans ces analyses post-mortem, afin d'améliorer l'adhésion aux directives existantes chaque fois que cela est disponible, tout en suggérant des conseils supplémentaires en absence de procédures.
Contributeurs: **C Basso**, Padua, Italy ; **S Boers**, Utrecht, The Netherlands ; **P Charron**, Paris, France; **A Clarke**, Cardiff, UK; **M Cornel**, Amsterdam, The Netherlands; **E Delmarre**, Angers, France; **AM Duguet**, Toulouse, France ; **C van El**, Amsterdam, The Netherlands; **F Fellmann**, Lausanne, Switzerland; **F Forzano**, London, UK; **H Howard**, Uppsala, Sweden; **S Kauferstein**, Frankfurt, Germany; **K Michaud**, Lausanne, Switzerland; **H Kayserili**, Istanbul, Turkey; **A Lucassen**, Southampton, UK; **A Mendes**, Porto, Portugal; **C Patch**, London, UK; **D Radojkovic**, Belgrade, Serbia; **E Rial-Sebbag**, Toulouse, France; **A Sajantila**, Helsinki, Finland; **M Sheppard**, London, UK; **AM Tassé**, Canada; **S Temel**, Turkey; **A Wilde**, Amsterdam, the Netherlands; **C Yakicier**, Istanbul,Turkey

FELLMANN_Assises Genetiques.docx

CO078 : Une mutation du gène CALM3 responsable de syndrome du QT long congénital dans une famille française

Auteurs :

Koichi KATO (1), Holly M. ISBELL (2), Véronique FRESSART (3), Amal DEBBICHE (1), Isabelle DENJOY (4), Alain COULOMBE (1), Alfred L. GEORGE (5), Hideki ITOH (6), Madeline A. SHEA (2), Pascale GUICHENEY (1)

1. UMRS1166, Sorbonne Université, Faculté de médecine Pierre et Marie Curie, Paris, France
2. Department of Biochemistry, Carver College of Medicine, University of Iowa, Iowa, Etats-Unis
3. Service de Biochimie Métabolique, Unité de Cardiogénétique et Myogénétique, AP-HP, Pitié-Salpêtrière Hospital, Paris, France
4. Service de Cardiologie, AP-HP, Hôpital Bichat, Paris, France
5. Department of Pharmacology, Northwestern University Feinberg School of Medicine, Chicago, Etats-Unis
6. Department of cardiovascular medicine, Shiga University of Medical Science, Otsu, Japon

Mots clefs : CALM3, calmoduline, patch clamp, LQTS, arythmie cardiaque

Résumé :

Introduction La calmoduline, codée par les gènes *CALM1-3*, est une protéine multifonctionnelle qui régule entre autres l'activité de plusieurs canaux ioniques cardiaques. Récemment, des mutations hétérozygotes dans ces 3 gènes, codant la même protéine, ont été identifiées comme responsables de formes rares de syndrome du QT long (SQTL) et de tachycardie ventriculaire catécholaminergique (TVC), le plus souvent sévères, incluant des mutations *de novo*. Nous avons identifié une nouvelle mutation dans une grande famille de SQTL, dont l'origine de la maladie est restée longtemps inconnue.
Méthodes Les exomes de 3 sujets atteints et 2 sujets sains ont été séquencés par Integragen. Des cellules HEK293 ont été co-transfectées avec des plasmides sauvages (h-CALM3-WT) ou mutés (N138K and D130G) de la calmoduline humaine et avec les 3 sous-unités du canal calcique cardiaque Cav1.2 pour analyser le courant calcique par la technique de patch-clamp en cellule entière. Des protéines CALM-WT et mutées ont été purifiées et leur affinité pour les domaines N- et C-terminales de liaison au calcium a été étudiée.
Résultats : Après avoir exclu tous les gènes connus comme impliqués dans le SQTL, nous avons identifié un nouveau variant faux sens, p.N138K, dans le gène *CALM3*, coségrégeant avec le phénotype atteint SQTL. Ce variant affecte une asparagine très conservée localisée dans le 4ème site de fixation au calcium de la calmoduline. Deux enfants sont décédés de mort subite et les 9 autres porteurs de la famille sont asymptomatiques mais ont, pour la plupart, été traités par un béta-bloquant. La longueur moyenne de l'intervalle QTc est de 494 +/-21 ms. Les enregistrements des courants calciques dans les cellules exprimant N138K-CALM ont montré une inactivation significativement perturbée comparée au WT, néanmoins moins lente que pour le variant D130G qui a été associé à des phénotypes très sévères. L'affinité du domaine C-terminale pour le calcium est 10 fois plus faible pour le N138K-CALM que pour le WT-CALM, alors que l'affinité du domaine N-terminale reste inchangée.
Conclusion : La nouvelle mutation identifiée dans *CALM3*, p.N138K, dans une grande famille de SQTL modifie l'affinité de la calmoduline pour le calcium et l'inactivation du canal calcique cardiaque en accord avec le phénotype moins sévère dans cette famille comparée à d'autres variants de la calmoduline publiés récemment. Les gènes codant la calmoduline*, CALM1, CALM2* et *CALM3* doivent être séquencés chez tous les patients atteints de SQTL, de TVC, ou de mort subite cardiaque inexpliquée chez les sujets jeunes.

CO079 : Variations du nombre de copies (CNV) et pathologies autosomiques récessives

Auteurs :

Jérémie Mortreux (1), Khaoula Khachnaoui (2), Sandra Chantot-Bastaraud (3), Nicolas Chatron (4, 5), Roseline Froissart (6), David Geneviève (7), Delphine Héron (8, 9), Boris Keren (10), James Lespinasse (11), Cyril Mignot (12), Gwenaël Nadeau (13), Sylvie Odent (14), Céline Pebrel-Richard (15), Jacques Puechberty (7), Massimiliano Rossi (4, 5), Damien Sanlaville (4, 5), Mathias Schwartz (3), Damien Sternberg (16), Marianne Till (4, 5), Philippe Vago (15), Sandra Whalen (17), Nicole Philip (1, 18), Chantal Missirian (1, 18)

1. Département de Génétique Médicale, APHM, CHU Timone Enfants, Marseille, France
2. Service des Maladies Congénitales et Héréditaires, CHU Charles Nicole, Tunis, Tunisie
3. Département de Génétique médicale, UPMC, AP-HP, Hôpital Armand Trousseau, Paris, France
4. Service de génétique, Centre de Référence Anomalies du Développement, Hospices Civils de Lyon , Bron, France
5. INSERM U1028, CNRS UMR5292, Centre de Recherche en Neurosciences de Lyon, GENDEV Team, Université Claude Bernard Lyon 1, Lyon, France
6. UF Maladies Héréditaires du Métabolisme, Centre de Biologie et de Pathologie Est, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
7. Département de Génétique Médicale, Maladies rares et Médecine Personnalisée, CHU de Montpellier, Montpellier, France
8. Département de Génétique, Centre de Référence , AP-HP, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France
9. Groupe de Recherche Clinique (GRC) "déficience intellectuelle et autisme" UPMC. INSERM, U 1127, CNRS UMR 7225, Sorbonne Universités, UPMC Univ Paris 06, Institut du Cerveau et de la Moelle épinière, ICM, Paris, France
10. Département de Génétique, AP-HP, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France
11. UF de génétique, Centre hospitalier métropole Savoie, BP 31125 - 73011, Chambéry, France
12. Département de Génétique, Centre de Référence "déficiences intellectuelles de causes rares", AP-HP, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France
13. UF de génétique, Centre hospitalier métropole Savoie, Chambéry, France
14. Service de Génétique Médicale, CHU Hôpital Sud, CLAD Ouest, 35203, Rennes, France
15. Service de Cytogénétique Médicale, CHU Estaing, F-63003 , Clermont-Ferrand, France
16. Service de Biochimie, Laboratoires de Génétique, AP-HP, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France
17. UF de génétique clinique, CRMR « anomalies de développement et syndromes malformatifs », AP-HP, Hôpital Armand Trousseau, Paris, France
18. GMGF UMR_S 910, Aix Marseille Université, Marseille, France

Mots clefs : CNV, ACPA, autosomique récessif, SNV, séquençage haut-débit

Résumé :

Les variations du nombre de copies (CNV) participent à la variabilité génétique au même titre que les variations nucléotidiques (SNV). Leur impact dans le spectre mutationnel de nombreuses maladies génétiques a été rapporté à plusieurs reprises. Néanmoins, leur contribution dans la pathogénicité des maladies récessives a probablement été sous-estimée jusqu'à présent. Nous rapportons 19 observations recrutées par une étude collaborative nationale au travers du réseau AChroPuce illustrant les différentes situations impliquant des CNV dans la pathogénicité de diverses maladies autosomiques récessives. Il s'agit (1) de CNV homozygotes dans un contexte de consanguinité ; (2) d'hétérozygotie composite avec soit deux CNV de tailles différentes, soit un CNV associé à un variant pathogène sur l'autre allèle identifié par séquençage. Malgré leur potentielle implication en pathologie, certains CNV sont rapportés dans la base de données *Database of Genomic Variants* (DGV), soulignant l'importance du contexte clinique pour l'interprétation d'analyses chromosomiques sur puce à ADN (ACPA) en diagnostic. Trois patients ont été étudiés par séquençage complet du génome (WGS) dans le cadre du projet pilote WGS (filières de santé DéfiScience et AnDDi-Rares et le CNG), confirmant que cette technologie permet de détecter simultanément CNV et/ou SNV. Le WGS permet également une meilleure couverture des gènes et une meilleure résolution pour la détection des CNV. Nous proposons une stratégie pour l'identification de ce type d'hétérozygoties composites impliquant un CNV en exploitant les données de séquençage haut-débit et d'ACPA actuellement disponibles.

Mortreux_Abstract_CNVs_pathologies_récessives_V4.doc

CO080 : Recherche des bases moléculaires de phénotypes extrêmes de cancer par séquençage d'exome

Auteurs :

Martin Chevarin (1), Nicolas Bourgon (1), Yannis Duffourd (2), Amandine Baurand (1, 3), Caroline Jacquot (1, 3), Geoffrey Bertolone (1, 4), Jeremy Skrzypski (3), Sophie Nambot (1), Christophe Philippe (1), Romain Boidot (5), François Ghiringhelli (5), Mark O'Driscoll (6), Laurence Faivre (1, 3)

1. Centre de Génétique, CHU Dijon, Dijon, France
2. FHU Translad, CHU Dijon, Dijon, France
3. Unité d'oncogénétique, Centre George François Leclerc, Dijon, France
4. Unité d'oncogénétique, CHU Dijon, Dijon, France
5. Plateforme de transfert en biologie des cancers, Centre George François Leclerc, Dijon, France
6. Human DNA Damage Response Disorders Group, University of Sussex, Brighton, Royaume Uni

Mots clefs : cancer, oncogénétique, exome, ATR

Résumé :

En cancérologie, un phénotype extrême peut être défini par un âge de survenue particulièrement précoce pour l'organe concerné, le développement de plusieurs tumeurs primaires chez le même patient et/ou l'agrégation de nombreux cas de cancers du même spectre dans une branche familiale. Dans ces situations, une prédisposition génétique est fortement suspectée. Lorsque les analyses par panel diagnostic sont négatives, la poursuite des investigations peut être proposée dans une démarche de recherche, en mettant à profit le séquençage de l'exome. Différentes stratégies peuvent être employées : une analyse en trio permet d'identifier des mutations « de novo » pour les cas sporadiques selon le modèle puissant dont l'efficacité a été démontrée dans le domaine des maladies rares ; ou une analyse à partir de 2 apparentés les plus éloignés dans le cas d'une forme familiale permet d'identifier des mutations communes. Pour cela, des patients avec cancer du colon avant 35 ans, cancers de l'ovaire avant 40 ans, et cancers du sein dans les familles avec plusieurs cas de cancer du sein masculin (CSM) sont recrutés de façon prospective. Cette approche a permis d'identifier plusieurs gènes candidats. L'exemple de l'identification du gène ATR comme un gène candidat de prédisposition au cancer du sein chez l'homme sera présenté.
ATR est un acteur majeur du contrôle du cycle cellulaire et de la réparation de l'ADN. Une mutation tronquante a été identifiée chez un patient recruté en raison de l'existence de plus d'un CSM dans sa famille. Elle est absente des bases de données ExAC et gnomAD. Le séquençage ciblé de ce gène sur une cohorte de réplication composée majoritairement de CSM et de patientes à très haut risque de cancer du sein a permit d'identifier une seconde mutation chez un autre cas de CSM dans le site accepteur d'épissage du dernier exon d'*ATR,* ainsi que 7 variants de signification inconnue. L'étude fonctionnelle de l'impact du premier variant d'*ATR* montre une diminution de son expression et une diminution de la phosphorylation de CHEK1, principal effecteur de la réparation de l'ADN médiée par ATR. Il n'a pas été identifié d'expression de transcrit tronqué, ni de perte d'hétérozygotie dans la tumeur du patient. Ces données, en accord avec la littérature indiquant que les cellules et les souris totalement déficientes en ATR ne sont pas viables, permettent d'émettre l'hypothèse que l'haploinsuffisance d'ATR engendre une instabilité génomique modérée mais suffisante pour aboutir à la transformation tumorale.

CO081 : Patients atteints d'un médulloblastome avec mutation constitutionnelle du gène SUFU: caractéristiques cliniques, risque tumoral et pronostic.

Auteurs :

Léa Guerrini-Rousseau (1), Christelle Dufour (1), Pascale Varlet (2), Julien Masliah-Planchon (3), Franck Bourdeaut (4), Marine Guillaud-Bataille (5), Anne Isabelle Bertozzi (6), Fanny Fouyssac (7), Sophie Huybrechts (8), Stéphanie Puget (9), Brigitte Bressac - De Paillerets (5), Olivier Caron (10), Nicolas Sevenet (11), Marina Dimaria (9), Sophie Villebasse (9), Olivier Delattre (12), Dominique Valteau-Couanet (1), Jacques Grill (1), Laurence Brugieres (1)

1. Oncologie de l'Enfant et de l'Adolescent, Gustave Roussy, Villejuif, France
2. Neuropathologie, Hôpital sainte Anne, Paris, France
3. Génétique et biologie des Cancers, Institut Curie, Paris, France
4. Oncologie pédiatriqe Adolescents Jeunes Adultes, Institut Curie, Paris, France
5. Biologie et pathologie Médicales, Gustave Roussy, Villejuif, France
6. Hémato-Immuno-Oncologie Pédiatrique, CHU, Toulouse, France
7. Onco-hématologie pédiatrique, CHU, Nancy, France
8. Hematology-Oncology, Hôpital Universitaire des Enfants Reine Fabiola, Bruxelles, Belgique
9. Neurochirurgie Pédiatrique, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France
10. Médecine Oncologique, Gustave Roussy, Villejuif, France
11. Génétique Moléculaire, Institut Bergonié, Bordeaux, France
12. Génétique Somatique, Institut Curie, Paris, France

Mots clefs : SUFU, medulloblastoma, children, predisposition, risk

Résumé :

Background: Germline *SUFU* mutations predispose to SHH-medulloblastoma in the first years of life. Little is known about the magnitude of this risk. The clinical spectrum of this cancer predisposition syndrome has not yet been clearly described, even though germline *SUFU* mutations have been reported in nevoid basal cell carcinoma syndrome (NBCCS).
Patients and methods: We performed in France a retrospective review of all medulloblastoma patients in whom a germline *SUFU* mutation had been diagnosed.
Results: Twenty-two patients from 17 families were identified with a medulloblastoma and a germline *SUFU* mutation (median age at diagnosis 16.5 months). A macrocrania was present in 20 patients but only 5 met the diagnosis criteria for NBCCS. Despite a treatment combining surgery and chemotherapy, aiming at radiotherapy avoidance in all patients except one, the outcome was worse than expected in SHH-medulloblastoma due to a high incidence of local relapses (8/22 patients) and second malignancies (n= 6, 4/22 patients). The 5 year-PFS and OS were 42 and 66%. Mutations were inherited in 79% patients. Overall, 56 *SUFU* mutations carriers were identified. Penetrance of medulloblastoma was incomplete but higher than in *PTCH1* mutation carriers. In addition to medulloblastoma, 19 others tumors have been reported in *SUFU* mutation carriers included, basal cell carcinomas (BCC) in 2 patients and meningioma in 3.
Conclusion: Germline *SUFU* mutations strongly predispose to medulloblastoma in the first years of life, with a worse prognosis than usually observed in SHH-medulloblastoma. The clinical spectrum differs between *SUFU* and *PTCH1* mutation carriers and the incidence of BCC is much lower in *SUFU*. Optimal treatment for *SUFU* associated medulloblastoma still has to be defined.

SUFU Assisses.docx

CO082 : Mise en place d'une base de données internationale des variants du gène SDHB prédisposant aux paragangliomes et phéochromocytomes héréditaires

Auteurs :

Laurène Ben Aïm (1, 2), Anne Barlier (3), Sophie Giraud (4), Pascal Pigny (5), Delphine Prunier (6), Amira Mohamed (3), Alberto Cascon (7), Tonino Ercolino (8), Eamonn Maher (9), Diana Benn (10), Anne-Paule Gimenez-Roqueplo (1, 2), Nelly Burnichon (1, 2)

1. Département de Génétique, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Hôpital européen Georges Pompidou, Paris, France
2. INSERM UMR970, Paris Centre de Recherche Cardiovasculaire, Paris, France
3. Département de génétique médicale, Assistance Publique Hôpitaux de Marseille, Hôpital de la Timone, Marseille, France
4. Service de Génétique Moléculaire et Médicale, Hospices Civils de Lyon, Centre Hospitalier Universitaire de Lyon, Lyon, France
5. Service Hormonologie Métabolisme Nutrition Oncologie, Centre Hospitalier Régional Universitaire de Lille, Centre de Biologie Pathologie Génétique, Lille, France
6. Département de Biochimie et Génétique, Laboratoire de biochimie, Laboratoire MITOVASC, UMR CNRS 6015 – INSERM1083, Centre Hospitalier Universitaire d'Angers, Angers, France
7. Hereditary Endocrine Cancer Group , Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas, Madrid, Espagne
8. Dipartimiento di Scienze Biomediche, Sperimentali e Cliniche, University of Firenze, Firenze, Italie
9. Academic Department of Medical Genetics, University of Cambridge, Cambridge, Royaume Uni
10. Cancer Genetics Group, Kolling Institute of Medical Research, Royal North Shore Hospital, University of Sydney, Sydney, Australie

Mots clefs : database, mutation, gène SDHB, paragangliome, phéochromocytome

Résumé :

Contexte
Les paragangliomes et phéochromocytomes (PPGL) sont des tumeurs endocrines rares, génétiquement déterminées dans environ 40% des cas. Les mutations constitutionnelles du gène suppresseur de tumeur *SDHB* représentent à elles seules 8 à 10% des mutations identifiées faisant de lui un gène majeur de susceptibilité aux PPGL. Le projet de mise en place d'une database des variants du gène *SDHB* est né d'un consortium international d'experts à l'initiative de la France. L'objectif est de référencer les variations identifiées à travers le monde puis de proposer un algorithme décisionnel robuste afin d'harmoniser la classification de ces variants en *bénin* (classe 1), *probablement non-pathogène* (classe 2), *de signification indéterminée* (classe 3), *probablement pathogène* (classe 4) ou *pathogène* (classe 5). Pour chaque variant, ont été recensés les données cliniques des patients porteurs, les résultats des éventuelles analyses fonctionnelles menées, les analyses *in silico* et les données de fréquences rapportées dans les databases ou les publications. Deux types de critères, adaptés de publications récentes, ont été comparés pour la classification des variants.
Données
694 variants du gène *SDHB* ont été soumis (376 par le réseau français TENGEN, 70 par l'Espagne, 20 par l'Italie, 215 par le Royaume-Uni et 13 par l'Australie) comprenant 218 variants différents dont 122 rapportés une seule fois. Les 218 variants comprenaient 4 variants dans la région 5' UTR, 2 sur le codon d'initiation, 14 introniques, 7 synonymes, 16 grands réarrangements, 37 indels, 3 délétions en phase, 20 non-sens, 21 sur un site d'épissage et 94 faux-sens.
Résultats
Le grand nombre de données collectées nous a permis de sélectionner des critères de classification et de les pondérer. Nous avons ainsi retenu des critères très forts tels que le type de variation et les données fonctionnelles notamment les résultats d'analyses immunohistochimiques et des critères plus modérés comme la fréquence dans les bases de données ou les prédictions *in silico*. Selon les critères retenus, les 218 variants se répartissent ainsi : 2 classe 1 (0,94%), 16 classe 2 (7,51%), 82 classe 3 (38,5%), 75 classe 4 (35,21%) et 38 classe 5 (17,84%). Les 82 variants de classe 3 se caractérisent en majorité par l'absence de données fonctionnelles disponibles.
Conclusion
Grace aux critères retenus, la pathogénicité ou non de 61,5% des variants du gène *SDHB* inclus dans la database a pu être évaluée (classes 1, 2, 4 ou 5). L'apport de données fonctionnelles est indispensable pour la classification des 38,5% des variants demeurant de signification indéterminée et un effort de collaboration internationale est en cours afin d'y parvenir. Les 218 variants (dont 93 sont à ce jour non répertoriés) et leur interprétation validée par un comité d'experts seront prochainement inclus dans la database publique Leiden Open Variation (LOVD). Une mise à jour et une réévaluation de la classification des variants sont prévues régulièrement.

Assises2018_Abstract_SDHB DB.docx

CO083 : Les modèles murins de syndrome de Li-Fraumeni confirment la contribution des traitements anticancéreux génotoxiques au développement des tumeurs primitives multiples chez les patients porteurs d'une mutation constitutionnelle de TP53.

Auteurs :

Edwige Kasper (1), Emilie Angot (2), Elodie Colasse (2), Lionel Nicol (3), Jean-Christophe Sabourin (2), Sahil Adriouch (4), Camille Le Clézio (1), Yann Lacoume (5), Sabine Raad (1), Yasmine Zerdoumi (1), Thierry Frebourg (1), Jean-Michel Flaman (6), Gaëlle Bougeard-Denoyelle (1)

1. Inserm U1245, UNIROUEN, Normandie Univ, et Département de Génétique, CHU de Rouen, Centre Normand de Génomique et de Médecine Personnalisée , Rouen, France
2. Inserm U1245, UNIROUEN, Normandie Univ et Département d'Anatomopathologie CHU de Rouen, Centre Normand de Génomique et de Médecine Personnalisée , Rouen, France
3. PICTUR - Small Animal Imaging, UNIROUEN, Normandie Univ, Rouen, France
4. Inserm U1234, UNIROUEN, Normandie Univ, Rouen, France
5. Animalerie, Faculté de Médecine et de Pharmacie, UNIROUEN, Normandie Univ, Rouen, France
6. Inserm U1052, CNRS 5286, Lyon, France

Mots clefs : syndrome de Li-Fraumeni, TP53, cancers primitifs multiples, traitements anticancéreux, génotoxicité

Résumé :

Le syndrome de Li-Fraumeni (LFS), dû à des mutations constitutionnelles du gène *TP53*, est l'une des prédispositions au cancer les plus sévères, caractérisée par un âge d'apparition précoce et un large spectre tumoral. Nous avons rapporté récemment, chez les patients LFS, une incidence très élevée de cancers primitifs multiples (CPM) (> 40%), comprenant, en particulier, des tumeurs secondaires développées dans le champ d'irradiation. Ces observations et le rôle clef de la protéine p53 dans la réponse aux génotoxiques cliniques nous ont conduits à envisager un lien entre ces traitements et le développement de CPM chez les patients LFS. Nos précédents travaux, basés sur un test de génotoxicité évaluant la réponse transcriptionnelle de p53 aux lésions de l'ADN dans des lymphocytes humains, ont montré que les chimiothérapies classiques, exceptés les poisons du fuseau, et la radiothérapie étaient génotoxiques. Ces données ont été confirmées *ex vivo* et *in vivo,* chez la souris. Dans cette étude, nous avons évalué l'impact *in vivo* des traitements génotoxiques sur le développement tumoral grâce à un modèle murin du LFS. Au total, 208 souris ont été analysées dans cette étude qui a duré 2 ans. Des souris *Trp53* KO *-/-, wt/-* et *wt/wt* ont été exposées aux rayons X ou à deux classes de chimiothérapie, un poison du fuseau (docétaxel), non génotoxique selon notre test cellulaire, et un inhibiteur de topoisomérase (etoposide), génotoxique. Le NaCl a été utilisé comme contrôle négatif. Le développement des tumeurs a été suivi par IRM corps entier mensuelle, et une analyse histopathologique a permis de confirmer la présence de tumeurs à la mort des animaux. A l'issue de cette étude, nos résultats démontrent clairement que les rayons X et l'etoposide accélèrent le développement tumoral chez les souris *Trp53 -/-* et *wt/-* (OR=4,6 IC 95 % [2,3-9,0], p=1,2.10^{-5}*** et OR=4,3 IC 95 % [2,2-8,6], p=2,1.10^{-5}***, respectivement), contrairement au docétaxel dépourvu d'effet sur la cinétique du développement tumoral chez les souris modèles du LFS (OR=1,6 IC 95 % [0,8-3,2], p=0,22). Cette étude apporte donc la preuve formelle que les chimiothérapies génotoxiques et la radiothérapie contribuent au développement de CPM chez les patients LFS. Par conséquent, chez les patients porteurs de mutations constitutionnelles de *TP53,* la radiothérapie doit être, lorsque cela est possible, évitée et la prise en charge chirurgicale priorisée. Chez des patients dont la présentation est très évocatrice d'une mutation de *TP53*, comme les patientes atteintes d'un cancer du sein précoce avant 31 ans, il est essentiel d'assurer dans le parcours de soin une analyse du gène *TP53* en urgence avant la radiothérapie et le choix de l'option chirurgicale. Nos résultats doivent inciter à considérer l'utilisation de traitements non génotoxiques, telles que les thérapies ciblées ou l'immunothérapie chez les patients porteurs d'une mutation constitutionnelle de *TP53* afin de réduire le risque de CPM.

CO084 : Caractérisation d'un rétrogène au locus RB1

Auteurs :

CLAUDE HOUDAYER (1, 2), CATHERINE DEHAINAULT (3), MATTEO BOUTTE (3), LISA GOLMARD (3), ALICE FIEVET (3), LIVIA LUMBROSO LE ROUIC (4), HELENE PACQUEMENT (5), MARION GAUTHIER VILLARS (3)

1. ONCOGENETIQUE et INSERM U830, INSTITUT CURIE, PARIS, France
2. GENETIQUE, UNIVERSITE PARIS DESCARTES, PARIS, France
3. ONCOGENETIQUE, INSTITUT CURIE, PARIS, France
4. OPHTALMOLOGIE, INSTITUT CURIE, PARIS, France
5. ONCOLOGIE PEDIATRIQUE, INSTITUT CURIE, PARIS, France

Mots clefs : rétrotransposition rétinoblastome

Résumé :

La moitié de notre génome provient d'éléments mobiles, rétrotransposons pour la plupart. Dans ce cas, la mobilité résulte de la transcription de l'ADN en ARNm mature, lequel est retrotranscrit en un ADNc qui est ensuite réintégré dans le génome à une position aléatoire. Cette mobilité par rétrotransposition est fréquente, estimée entre 1sur 20 et 1 sur 900 méioses suivant le type de rétrotransposon. De ce fait, des rétrotranspositions pathogéniques ont été décrites, résultant par exemple d'une insertion dans un exon ou un élément régulateur avec perte d'expression du gène concerné. En revanche, les phénomènes de rétrotransposition résultant en un gène actif (ou rétrogène) sont exceptionnels.
C'est ce type d'évènement de rétrogène actif que nous décrivons ici dans le cadre d'une forme familiale de rétinoblastome. Le rétinoblastome est une tumeur embryonnaire maligne de la rétine. Il s'agit d'une prédisposition héréditaire au cancer, monogénique car liée exclusivement aux mutations du gène *RB1* et transmise sur un mode autosomique dominant.
L'histoire familiale décrit un enfant, cas index, atteint d'un rétinoblatome bilatéral à 8 mois et son père, atteint d'un rétinoblatome unilatéral à 3 ans et d'un léïomyosarcome à 43 ans. La recherche des altérations ponctuelles et de grande taille sur l'ensemble de la séquence codante et des jonctions intron/exon n'ayant pas identifié de mutation, une étude de transcrits *RB1*complète a été réalisée. Elle a permis de caractériser une insertion de 114 nucléotides entre les exons 17 et 18 du gène *RB1* qui correspond à la séquence, en anti-sens, d'une partie des exons 2 et 3 du gène *HPF1*. La recherche de l'anomalie génomique causale, basée sur des PCR Long Range chevauchantes, a mis en évidence au sein de l'intron 17 de *RB1* l'intégralité de la séquence codante du gène *HPF1*, avec sa queue polyA.
Ainsi, l'ARNm mature du gène *HPF1* (localisé sur le chromosome 4) s'est rétrotranscrit et s'est inséré dans l'intron 17 de *RB1* (localisé sur le chromosome 13). Suite à cette rétrotransposition, une partie des exons 2 et 3 de *HPF1* se retrouve incluse dans le transcrit mature de *RB1* par utilisation de nouveaux sites accepteurs et donneurs d'épissage, l'ensemble donnant un transcrit de fusion original *RB1-HPF1-RB1*. L'anomalie identifiée, en phase, est cependant très vraisemblablement responsable du rétinoblastome car elle rompt un domaine fonctionnel important de la protéine pRb, la rendant probablement non fonctionnelle. De manière attendue, les deux sujets atteints sont porteurs. Les grands-parents paternels du cas index étant indemnes, on peut supposer que cette rétrotransposition est très récente, survenue par exemple dans les gamètes d'un des grands-parents.
Nous expliquons donc l'histoire de rétinoblastome dans cette famille mais décrivons surtout un phénomène de rétrogène récent particulièrement rare, l'émergence de rétrogène chez les primates étant estimée à 1 évènement par million d'années [Marques et al. PLoS Biology 2005].

CO085 : Diagnostic de l'hémochromatose chez des patients traités par phlébotomies : mauvaise interprétation des génotypes identifiés au locus HFE et sous estimations des causes secondaires d'hyperferritinémie.

Auteurs :

Gerald LE GAC (1), Virginie SCOTET (2), Isabelle GOURLAOUEN (2), Carine L'HOSTIS (2), Marie-Christine MEROUR (2), Suzanne ASSARI (3), Claude FEREC (2)

1. Inserm U1078, Université Bretagne Loire – Université de Bretagne Occidentale, IBSAM, CHRU de Brest - Laboratoire de Génétique Moléculaire, Laboratoire de Génétique Moléculaire des Groupes Sanguins, Etablissement Français du Sang - Bretagne, BREST, France
2. Inserm U1078, Université Bretagne Loire – Université de Bretagne Occidentale, IBSAM, CHRU de Brest - Laboratoire de Génétique Moléculaire, Etablissement Français du Sang - Bretagne, Brest, France
3. Direction Médicale de l'EFS, La Plaine Saint Denis, Paris, France

Mots clefs : Hémochromatose, HFE, Fiabilité du diagnostic, traitements par saignées itératives, hyperferritinémies secondaires

Résumé :

Introduction : Le diagnostic de l'hémochromatose (HC) liée au gène *HFE* associe une surcharge tissulaire en fer, ciblant principalement le parenchyme hépatique, et le génotype p.[Cys282Tyr];[Cys282Tyr]. L'association du génotype hétérozygote composite p.[Cys282Tyr];[His63Asp] avec la maladie demeure ambiguë. Ce génotype est considéré comme un facteur de risque par la plupart des sociétés savantes compte-tenu de sa plus grande fréquence en population générale et de l'observation d'une ou plusieurs causes secondaires de surcharge en fer chez une majorité de patients. De fait, le génotypage systématique de la variation p.His63Asp chez des sujets présentant des formes modérées de surcharge en fer n'est plus recommandé dans un certain nombre de pays européens.
Objectif : Nous avons posé la question de l'interprétation des génotypes observés au locus *HFE* chez des patients traités par phlébotomies en raison d'un diagnostic d'HC.
Matériel et Méthodes : 488 patients considérés comme atteints d'HC ont été recrutés dans 25 centres de santé de l'Etablissement Français du Sang entre janvier 2012 et décembre 2015. Tous avaient une élévation de la ferritine sérique (≥300 µg/L chez les hommes; ≥200 µg/L chez les femmes non ménopausées). Les typages des variations p.Cys282Tyr et p.His63Asp ont été réalisés de manière exhaustive par PCR en temps réel. Un questionnaire médical a permis de recenser des données sociodémographiques, biologiques, cliniques et thérapeutiques et de proposer de manière rétrospective un diagnostic différentiel de l'hyperferritinémie. Le diagnostic d'HC était posé par les médecins prescripteurs des saignées (généralistes ou spécialistes).
Résultats : Les génotypes p.[Cys282Tyr];[Cys282Tyr] et p.[Cys282Tyr];[His63Asp] ont été observés chez 258 (54%) et 112 (23%) patients, respectivement. Près de 25% des patients (n=118) présentaient un génotype incompatible avec le diagnostic d'une HC. Les quantités de fer plasmatique (saturation de la transferrine) et de fer soustrait par phlébotomies étaient significativement inférieures dans ce troisième groupe de patients. Un syndrome métabolique (SM) était diagnostiqué chez 48,3% alors que 11,9% déclaraient une consommation excessive d'alcool. Le SM apparaissait être la cause majoritaire d'hyperferritinémie secondaire chez les patients p.[Cys282Tyr];[His63Asp] (56,3%), alors que l'association d'un SM et du génotype p.[Cys282Tyr];[Cys282Tyr] était observée chez un nombre significativement plus faible de patients (28,3%; $p < 0,0001$).
Conclusions : Notre étude démontre que l'HC liée au gène *HFE* est évoquée par erreur chez un nombre conséquent de patients traités par phlébotomies. Cela pose clairement la question de la formation médicale, en particulier chez les médecins généralistes. Elle confirme également que des recommandations hygiéno-diététiques pourraient bénéficier à une majorité de sujets p.[Cys282Tyr];[His63Asp] chez lesquels le SM semble sous-diagnostiqué.

CO086 : La thérapie génique médiée par un virus associé à l'adénovirus (AAV9) restaure l'activité enzymatique dans un modèle murin pour une maladie de surcharge lysosomale, l'aspartylglucosaminurie

Auteurs :

Chen Xin (1), Sarah Snanoudj-Verber (2, 1), Laura Pollard (3), Sara Cathey (4), Steven Gray (1, 5)

1. Gray lab, UNC Gene Therapy Center, Chapel Hill, NC, Etats-Unis
2. Service de génétique, Centre Hospitalo-Universitaire de Caen, Caen, France
3. Metabolic laboratory , Greenwood Genetic Center, Greenwood, SC, Etats-Unis
4. Genetics clinic, Greenwood Genetic Center, Charleston, SC, Etats-Unis
5. Department of Ophtamology, University of North Carolina at Chapel Hill, Chapel Hill, NC, Etats-Unis

Mots clefs : Thérapie génique, AAV, maladie lysosomale, aspartylglucosaminurie, modèle murin

Résumé :

Aspartylglucosaminuria (AGU) is an autosomal recessively inherited lysosomal storage disease. It is caused by the absence of functional lysosomal enzyme aspartylglucosaminidase (AGA), resulting in the accumulation of AGA substrate, aspartylglucosamine (GlcNAc-Asn) in different body fluids and tissues. In humans, AGU is a progressive disorder characterized by intellectual disability, skeletal abnormalities, and early mortality. Currently, there is no cure for AGU. Previous adenovirus-mediated gene therapy was demonstrated to be effective in locally reducing lysosomal storage in the brain (intraparenchymal route) and fully correcting it in liver (intravenous route, IV) of AGU mice. Over the past decade, adeno-associated virus (AAV) gene therapy has progressed rapidly and AAV9 vectors have been shown to confer a dramatic therapeutic improvement to neurological disorders. Therefore, we hypothesized that AAV9-based gene therapy may impart a therapeutic benefit to AGU mice. A construct carrying the codon-optimized human *AGA* gene was packaged into AAV9 capsids as a self-complementary (sc) genome. The scAAV9/*AGA* vectors were injected in the tail vein of adult AGU mice at $2x10^{11}$ vg/mouse. Serum AGA activity and urine GlcNAc-Asn excretion were measured at one week before and multiple time points post injection. Our results clearly show that IV injection of scAAV9/*AGA* vectors dramatically increases AGA activity 1 week post injection to a super physiological level (treated KO vs KO vs Het mice: 736.4±46.9 vs 0 vs 10.0±1.3 nmol/24hr/ml serum). Serum AGA activity in about half of treated mice decreases but is still significantly higher than in heterozygous mice and those levels are sustained in all treated mice up to 32 weeks post injection. Urine GlcNAc-Asn excretion decreases substantially in scAAV9/AGA vector treated groups at 4 (treated KO vs KO vs Het mice: 13±14 vs 1132±473 vs 0 mg GlcNAc-Asn/g creatinine) and 8 (treated KO vs KO vs Het mice: 14±14 vs 786±429 vs 0 mg GlcNAc-Asn/g creatinine) weeks post injection. These results suggest that IV administration of scAAV9/AGA vectors can almost completely clear peripheral GlcNAc-Asn accumulation in AGU mice. Similar results have been achieved in mice dosed by lumbar intrathecal (IT) injection. In one mouse treated IT at the dose of $1x10^{11}$ vg, AGA activity was restored at physiological levels in both the brain (Het mouse vs KO vs treated KO: 271.2 vs 102.9 vs 235.1 μmol/h/g of protein) and the liver (Het mouse vs KO vs treated KO: 68.6 vs 7.0 vs 70.4 μmol/h/g of protein). In mice treated IV at the dose of $1x10^{12}$ vg and IT at the dose of $1x10^{11}$ vg, a normal mobility behavior was restored in a 5-minute open field test. Imaging, and histopathological staining are being used to further determine if these benefits extend to the central nervous system. The results from the study suggest that gene therapy could be considered for possible future human translation.

Abstract #12673.docx

CO087 : Une nouvelle entité clinique et génétique : l'identification d'un nouveau gène impliqué dans les formes précoces d'Insuffisance pancréatique exocrine isolée .

Auteurs :

emmanuelle Masson (1), Claude FEREC (2, 3)

1. laboratoire de génétique moléculaire, CHU Brest, Brest, France
2. laboratoire de génétique moléculaire, CHU Brest, BREST CEDEX 2, France
3. INSERM UMR1078, CHU Brest, BREST CEDEX 2, France

Mots clefs : Insuffisance pancréatique exocrine,délétion homozygote du gène SPINK1,

Résumé :

Les causes classiques d'Insuffisance Pancréatique Exocrine (IPE) de l'enfant sont la mucoviscidose et le syndrome de Shwachman-Diamond .Ces maladies sont dues à des mutations dans les gènes *CFTR* (OMIM #602421) et *SBDS* (OMIM #607444) respectivement. En général les patients atteints de ces deux maladies génétiques présentent d'autres atteintes cliniques que sont une infection/inflammation pulmonaire dans la mucoviscidose et des anomalies hématologiques avec une mono ou pluri cytopénie et des anomalies osseuses dans le Shwachman-Diamond (S.D).Une caractéristique histopathologique retrouvée dans le S.D est la lipomatose pancréatique.
L'IPE isolée dans les premières années de vie est exeptionnelle .Nous avons recherchéune cause génétique à la suite de la découverte chez deux jeunes enfants à quelques mois de vie d'une I.P.E. isolée .Les recherches de mutations dans les gènes *CFTR* et *SBDS* ont tout d'abord été négatives et nous avons alors analysé les gènes majeurs impliqués dans la synthèse du trypsinogène c.a.d *PRSS1* (OMIM #276000), *SPINK1* (OMIM# 167790) et *CTRC* (OMIM# 601405).L'analyse moléculaire de *PRSS1* et *CTRC* s' est révélée négative cependant nous avons mis en évidence deux mutations perte de fonction dans le gène SPINK1 .Chez le premier enfant, issu de parents consanguins , une absence d'amplification des exons du gène SPINK1 nous permet de mettre en évidence une délétion complète à l'état homozygote de 37.194 bp qui implique seulement le gène SPINK1.Chez notre second patient les deux derniers exons de SPINK1 étudiés par H.R.M étaient absents ce qui nous a conduit à proposer l'hypothèse d'une insertion sur les deux allèles ,en augmentant le temps d'extension de nos cycles de PCR de 30 à 45 secondes nous avons pu montrer un la présence d'un produit d'insertion de 400pb de long présent à l'état hétérozygote chez chacun des parents également consanguins ,le séquençage de ce produit nous montre qu'il s'agit d'une séquence *Alu* de 359 pb dans la region 3' non traduite du gene *SPINK1*
Nous avons ensuite cloné la séquence normale et la séquence portant l'insertion Alu de SPINK1dans le vecteur pcDNA3.1/V5-His-TOPO.La transfection des cellules HEK293T par le vecteur portant le mutant nous montre une absence totale de transcrit *SPINK1.*
Nous rapportons ici les premiers cas d' I.P.E. isolée qui présentent des manifestations cliniques identiques (apparition d' une I.P.E isolée à partir de l'age de 5 mois ,lipomatose diffuse du pancréas ,absence d' autres anomalies cliniques ,et un développement normal après traitement par enzymothérapie)

En conclusion nous apportions ici les évidences cliniques et génétiques qui définissent une nouvelle pathologie pédiatrique ie une insuffisance pancréatique exocrine severe et isolée issociée à une perte de function complete du gene SPINK1.De plus cette insertion *Alu* identifiée ici est la première insertion *Alu* survenant dans la region 3' UTR d'un gene qui est responsable de la survenue d'une maladie génétique.

CO088 : The potential therapeutic effect of lysine deacetylase inhibition in dominant optic atrophy

Auteurs :

mariame Selma KANE (1), Jennifer ALBAN (2), Philippe CODRON (3), Valérie DESQUIRET DUMAS (4), Naïg GUEGUEN (5), Jane JARDINE (6), Vincent PROCACCIO (7), Guy LENAERS (8), Pascal REYNIER (7), arnaud CHEVROLLIER (1)

1. UMR6015 U1083 mitolab, université d'Angers, angers, France
2. UMR6015 U1083 Mitolab, CHU Angers, Angers, France
3. UMR6015 U1083, Inserm, angers, France
4. UMR6015 U1083 mitolab, CHU angers, angers, France
5. UMR6015 U1083, CHU Angers, angers, France
6. , université d'Angers, angers, France
7. UMR6015 U1083 mitolab, CHU Angers, angers, France
8. UMR6015 U1083 mitolab, Université d'Angers, angers, France

Mots clefs : optic atrophy mitochondria dynamic OPA1 deacetylase

Résumé :

Mutations in the mitochondrial fusion *OPA1* gene are related to the most common form of optic atrophy, Autosomal Dominant Optic Atrophy (ADOA). On the cellular level, *OPA1* gene mutations lead to an increased cell-sensitivity to apoptosis, bioenergetics dysfunction tied to mitochondrial control quality dysregulation. Moreover, evidence of acute ROS production in OPA1+/- drosophila model and in DOA patients cells indicate a role for oxidative stress in this pathogenesis. While the precise mechanism behind which lysine acetylation modulates cellular redox status remains unclear, it has proved beneficial in various pathological processes, notably by controling antioxydant defense.

To improve our knowledge on the mechanisms underlying the cellular redox status and the ROS production in ADOA, we performed the present in vitro study to precise the mechanisms behind which lysine acetylation modulate the derangements in mitochondrial structure and function consequent to OPA1 deficiency.
Our results performed on fibroblasts obtained from skin of ADOA patients demonstrate that pharmacological modulation of cellular acetylation reverses the hallmarks of OPA1-induced mitochondrial dysfunctions through increased mitochondrial biogenesis, modulation of mitochondrial dynamics mediators and upregulation of antioxidant defense mechanisms. Altogether, our results show that novel strategy treatment of DOA requires a fine tuning of the cell's redox status possibly through a modulation of lysine deacetylases.

CO089 : Analyse intégrée du grand projet de séquençage MYOCAPTURE d'identification de nouveaux gènes de myopathies

Auteurs :

Jocelyn Laporte (1), Raphael Schneider (1), Edoardo Malfatti (2), Gisèle Bonne (2), France Leturcq (3), Juliette Nectoux (3), Isabelle Nelson (2), Isabelle Richard (4), Martin Krahn (5), Safaa Saker (4), Marc Bartoli (5), Valérie Biancalana (6), Anne Boland (7), Julie Thompson (8), Norma Romero (2), Johann Böhm (1)

1. , IGBMC, Strasbourg, France
2. , Institut de Myologie, Paris, France
3. , Hôpital Cochin, Paris, France
4. , Généthon, Evry, France
5. , Hôpital d'Enfants de la Timone, Marseille, France
6. Laboratoire de diagnostic génétique, Nouvel Hôpital Civil, Strasbourg, France
7. , Institut de Génomique, Evry, France
8. , ICube, Strasbourg, France

Mots clefs : myopathies congénitales, séquençage haut-débit, exome, ZAK, MYPN, DHPR, PYROXD1, MYO18B

Résumé :

Les myopathies congénitales touchent des enfants et adultes dans toutes les populations, et représentent une charge importante pour les patients, leurs familles, et le système de santé publique. Elles sont potentiellement létales et généralement associées à une faiblesse musculaire, des problèmes respiratoires, et un développement moteur retardé. Elles comprennent plus de 10 étiologies qui varient en symptômes, complications et options de traitement, et qui se distinguent par la prédominance d'anomalies histologiques particulières sur biopsie musculaire comme des noyaux centraux, des bâtonnets de némaline, ou des agrégats tubulaires. Malgré les efforts ambitieux de la recherche, les bases moléculaires de la moitié de ces maladies rares sont toujours inconnues.
Afin d'identifier de nouveaux gènes de myopathies, nous avons séquencé plus de 1000 exomes de patients et leurs familles dans le cadre de MYOCAPTURE, un consortium regroupant 7 équipes de recherche françaises, la banque d'ADN du Généthon, et l'institut de Génomique. A travers l'analyse des données, nous avons obtenus les résultats majeurs suivants :

- Environ 10% des familles portent des mutations dans les gènes connus correspondant à leur présentation clinique et histopathologique. Il s'agit principalement de très grands gènes comme TTN ou NEB, qui n'ont pas été exclus par les méthodes de routine.
- Environ 15% des familles ont des mutations dans des gènes connus qui ne concordent pas avec la clinique et l'histologie, démontrant que l'hétérogénéité génétique et phénotypique des myopathies est sous-estimée, et que ce groupe de maladies nécessite potentiellement une reclassification.
- Environ 10% des familles portent des mutations dans des nouveaux gènes, et nous les avons validés par analyses de ségrégation et études fonctionnelles. Parmi ces nouveaux gènes, certains ont un rôle physiologique connu dans le muscle comme la myosine MYO18B, la protéine structurale MYPN, ou le canal calcique DHPR. D'autres n'avaient pas de fonction musculaire connue comme l'oxido-réductase PYROXD1 ou la kinase ZAK.
- En dehors des familles encore sous investigation, l'analyse par exome n'a pas pu identifier la cause génétique dans une partie importante des patients, indiquant la limite de l'approche et appelant d'autres méthodes de séquençage.

L'identification de mutations dans des gènes connus et des nouveaux gènes a significativement élargi le spectre clinique et génétique des myopathies congénitales, a amélioré le diagnostic moléculaire et la prise en charge des patients, et a contribué à la compréhension des mécanismes et voies impliquées dans la fonction musculaire normale et pathologique. De plus, les nouveaux gènes et leurs voies représentent des cibles pour des approches thérapeutiques.

Assises2018_MYOCAPTURE.docx

CO090 : Paraparésie spastique SPG5: place des oxystérols dans le diagnostic et le traitement

Auteurs :

Cecilia Marelli (1), Foudil Lamari (2), Dominique Rainteau (3), Elodie Petit (4), Guillaume Banneau (4), Marie-Lorraine Monin (4), Giovanni Stevanin (5), Alexandra Durr (4), Cyril Goizet (6), Fanny Mochel (4)

1. Département de Neurologie, Hôpital Gui de Chauliac, Montpellier, France
2. Laboratoire de Biochimie Métabolique, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France
3. Plateforme de Métabolomique, Peptidomique et dosage de Médicaments, Hôpital Saint-Antoine, Paris, France
4. Département de Génétique, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France
5. UMR S1127, Institut du Cerveau et de la Moelle épinière (ICM), Paris, France
6. Département de Génétique, Centre Hospitalier de Bordeaux, Bordeaux, France

Mots clefs : SPG5, oxystérols, diagnostic, atorvastatine, acide chénodéoxycholique

Résumé :

Les paraparésies spastiques héréditaires font partie d'un groupe croissant et très hétérogène de maladies neurodégénératives caractérisées par une spasticité aux membres inférieurs. L'hétérogénéité génétique est telle que les biomarqueurs plasmatiques sont indispensables afin de guider les analyses moléculaires des paraparésies spastiques. La paraparésie spastique de type 5 (SPG5) est une maladie autosomique récessive due aux mutations du gène CYP7B1 qui code pour un cytochrome P450 impliqué dans le métabolisme du cholestérol et des acides biliaires.
Nous avons développé une méthode de spectrométrie de masse ultrasensible afin de valider deux oxystérols, les 25- et 27-hydroxycholestérol, comme biomarqueurs diagnostiques dans une cohorte de 21 patients atteints de SPG5. Chez 14 patients, le diagnostic a été initialement suspecté sur la base d'analyses moléculaires, puis confirmé par le dosage des oxystérols. Chez 7 patients, le diagnostic a été orienté initialement vers SPG5 en raison de l'élévation plasmatique des oxystérols, puis confirmé secondairement par l'identification de deux mutations causales dans CYP7B1. Les courbes ROC ont montré que les oxystérols pouvaient distinguer les patients SPG5 des témoins avec une sensibilité et une spécificité de 100% .
Grâce à la robustesse des oxystérols, nous avons par la suite mené un essai thérapeutique de phase 2 chez 12 patients SPG5 recrutés sur l'ensemble du territoire français (Bordeaux, Dijon, Lyon, Montpellier, Nîmes, Paris, Rennes). Nous avons testé l'effet de trois molécules candidates (atorvastatine, acide chénodéoxycholique, resvératrol) sur le profil des oxystérols et des acides biliaires plasmatiques. L'essai consistait en trois phases de traitement de deux mois, séparées d'une période de quatre mois chacune, dont l'ordre des traitements était randomisé. En utilisant un modèle de régression linéaire mixte, nous avons mis en évidence une diminution significative du 27-hydroxycholestérol plasmatique sous atorvastatine ($p < 0,001$). Nous avons également mis en évidence un profil d'acides biliaires anormal chez les patients SPG5 avant traitement – baisse des acides biliaires totaux et baisse des acides ursodéoxycholique et lithocholique comparativement à l'acide déoxycholique – qui s'est normalisé sous acide chénodéoxycholique.
En conclusion, la combinaison d'atorvastatine et acide chénodéoxycholique doit être considérée dans les essais thérapeutiques à venir dans SPG5. Les oxystérols confirment par ailleurs leur intérêt comme biomarqueurs dans SPG5 et doivent être réalisés en première intention chez tout patient présentant une paraparésie spastique inexpliquée.

CO091 : Etude des variants génétiques contribuant au syndrome Gilles de la Tourette dans une cohorte française de 120 individus

Auteurs :

Christel Depienne (1), Oriane Trouillard (2), Delphine Bouteiller (2), Caroline Nava (2), Agnès Rastetter (2), Boris Keren (3), Alexis Brice (2), Yulia Worbe (2), Emmanuel Roze (2), Andreas Hartmann (2)

1. Institüt für Humangenetik, Universitätsklinikum Essen, Essen, Allemagne
2. Institut du Cerveau et de la Moelle épinière, ICM, INSERM, U 1127, CNRS UMR 7225, Sorbonne Universités, UPMC Univ Paris 06 UMR S 1127, Paris, France
3. département de génétique, APHP, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France

Mots clefs : Syndrome Gilles de la Tourette, variants rares, récepteur aux opioïdes, étiologie complexe, polygénisme

Résumé :

Le syndrome Gilles de la Tourette (SGT) est une maladie neurologique à composante génétique caractérisée par des tics involontaires, se traduisant par des mouvements (tics moteurs) ou des vocalisations (tics vocaux). En dépit de larges études visant à caractériser les facteurs génétiques favorisant sa survenue, les gènes et mécanismes en cause restent largement méconnus. Des variants rares des gènes *SLITRK1* and *HDC* ont été rapportés dans de rares familles, mais la signification de ces variants reste actuellement controversée. Nous avons entrepris l'étude des facteurs génétiques impliqués dans une cohorte de patients française constituée de 120 individus par une combinaison d'approches visant à rechercher des microréarrangements par puce à ADN de type SNP et des variants rares par séquençage d'exome de cas index ou de trios lorsque les deux parents étaient disponibles. Par ailleurs, les gènes *HDC*, *SLITRK1* et cinq gènes paralogues (*SLITRK2-6*) ont été séquencés dans l'ensemble de la cohorte. Treize variants rares de ces 7 gènes ont été identifiés chez 12 patients. L'étude de l'exome de ces 12 patients dans une hypothèse d'oligogénisme a permis de mettre en évidence des variants rares dans des gènes candidats exprimés dans les noyaux gris centraux tels que *OPRK1, OPRM1, PCDH10, NTS, NTSR1,* et *NTSR2.* L'étude de la fréquence des variants de ces gènes dans la cohorte et la comparaison avec une cohorte de 785 individus contrôles appariés a montré que les variants de OPRK1, codant pour le récepteur aux opioïdes kappa, étaient plus fréquentes chez les patients atteints de SGT que chez les individus témoins. Ces résultats sont en faveur d'une étiologie complexe du SGT et suggèrent que l'altération de la voie des opioïdes est un des facteurs contribuant ou prédisposant au SGT.

CO092 : Séquençage NGS ciblé (panel) vs. Whole Exome Sequencing : quelle stratégie adopter pour le diagnostic des neuropathies périphériques héréditaires (Charcot-Marie-Tooth et apparentées) ?

Auteurs :

Anne-Sophie LIA (1, 2), Corinne Magdelaine (1, 2), Hélène Dzugan (2, 1), Paco Derouault (2), Franck Sturtz (1, 2)

1. Biochimie et Génétique Moléculaire, CHU de Limoges, Limoges, France
2. EA6309, Faculté de Limoges, Université de Limoges, Limoges, France

Mots clefs : NGS ciblé, Exome, Diagnostic

Résumé :

Les neuropathies périphériques héréditaires (Maladie de Charcot-Marie-Tooth et apparentées) sont les plus fréquentes maladies neurologiques d'origine génétique (prévalence > 1/2500). Elles se révèlent par des tableaux cliniques variés : sensitives pures, motrices pures, sensitivo-motrices ou syndromiques. Ces tableaux peuvent même être recouvrants avec d'autres entités cliniques, paraplégies spastiques ou ataxies, par exemple. Plus de 90 gènes ont été impliqués à ce jour dans ces différentes neuropathies héréditaires, avec tous les modes de transmission possibles. Le diagnostic moléculaire est donc assez complexe dans ce cadre nosologique. Il y a quelques années, la technologie NGS a permis d'améliorer fortement le diagnostic moléculaire en criblant la totalité des gènes connus en une seule expérience. Mais, récemment, le séquençage de l'exome entier (WES) a ouvert de nouvelles perspectives. Quelle est donc la meilleure stratégie diagnostique à adopter concernant ces neuropathies ?

Nous avons conçu, il y a 4 ans, un panel personnalisé Ampliseq contenant l'ensemble des 93 gènes connus à l'époque pour être impliqués dans les CMT et pathologies proches. Grâce à cette approche, le diagnostic a pu être posé de façon certaine dans 56% des cas (contre 25% des cas par séquençage Sanger classique) sur 475 patients. Le coût estimé pour notre séquençage NGS ciblé 93 gènes est de 400 € (coût temps-technicien inclus). Chez ces patients, nous avons obtenu en moyenne 372 variants par patient, dont en moyenne 54 avaient une fréquence allélique inconnue ou inférieure à 3%. Ces variants ont alors été examinés attentivement en relation avec le phénotype du patient (clinique, EMG, biopsie) pour donner le diagnostic.

Plus récemment, nous avons testé le séquençage de l'exome complet de patients CMT qui n'avaient pas été diagnostiqués par le NGS ciblé. Nous avons obtenu en moyenne 153900 variants par individu, dont en moyenne 76286 avaient une fréquence allélique inconnue ou inférieure à 3%. La détection de nouvelles mutations pathogènes nécessite donc l'analyse d'individus supplémentaires de la famille, tels que les parents de l'individu atteint (analyse en trio) ou des apparentés éloignés. L'analyse du trio permet de réduire à 14002 le nombre de variants lorsque la transmission est dominante et à 3535 lorsque la transmission est récessive. Ce nombre de variants est encore beaucoup trop important pour conclure facilement. Seule l'analyse d'un plus grand nombre d'apparentés permet alors de poser un diagnostic positif. De plus, le coût-patient que nous estimons aujourd'hui est de 2789 € par patient, ce qui est 7 fois plus élevé que le coût du NGS ciblé.

Pour toutes ces considérations, nous préconisons donc de continuer à proposer l'approche NGS ciblé en première intention (avec l'utilisation d'un panel ciblé le plus exhaustif possible) et de réserver l'utilisation du WES à des cas non-diagnostiqués en NGS ayant plusieurs cas accessibles pour l'analyse, dans leur famille.

Assises de Génétique 2018 - NGS-WES - Anne-Sophie LIA.docx

CO093 : Phénotype associé au syndrome MED13L, étude d'une cohorte de 30 patients et implication des variations faux-sens

Auteurs :

Thomas Smol (1, 2), Florence Petit (3, 2), Amélie Piton (4), Boris Keren (5), Damien Sanlaville (6, 7), Alexandra Afenjar (8), Samuel Baker (9), Emma C Bedoukian (10), Elise Boudry-Labis (1), Odile Boute-Benejean (3, 2), Roseline Caumes (3), Nicolas Chatron (11), Christine Coubes (12), Charles Coutton (13), Françoise Devillard (13), Anne Dieux-Coeslier (3, 2), Martine Doco-Fenzy (14), Lisa J Ewans (15), Laurence Faivre (16, 17), Emily Fassi (18), Mike Field (19), Camille Fournier (4), Christine Francannet (20), Irina Giurgea (21), Anna K Green (22), Anne-Marie Guerrot (23), Delphine Heron (5), Bertrand Isidor (24), Beth A Kenna (25), Bryan L Krock (9), Paul Kuentz (26), Elisabetta Lapi (27), Nathalie Le Meur (23), Gaetan Lesca (11), Isabelle Marey (5), Caroline Nava (5), Addie Nesbitt (9), Catherine Roche-Lestienne (1), Tony Roscioli (28), Véronique Satre (13), Avni Santani (9), Pascale Saugier-Veber (23), Margarita Stefanova (22), Sara Steinwall-Larsen (29), Sylvie Picker-Minh (30), Caroline Thuillier (1), Alain Verloes (31), Gaelle Vieville (13), Maren Wenzel (32), Marjolaine Willems (12), Yuri A Zarate (33), Sylvie Manouvrier-Hanu (3, 2), Vera Kalscheuer (34), Benedicte Gerard (4), Jamal Ghoumid (3, 2)

1. Institut de génétique médicale, CHRU Lille, Lille, France
2. EA7364 RADEME, Université de Lille, Lille, France
3. Service de génétique clinique, CHRU Lille, Lille, France
4. Laboratoire de diagnostic génétique, CHRU Strasbourg, Strasbourg, France
5. Département de génétique, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Paris, France
6. Service de génétique, CHU Lyon, Lyon, France
7. GENDEV Team, CRN Lyon, Lyon, France
8. Service de génétique, Hôpital Armand-Trousseau, Paris, France
9. Department of Pathology Laboratory Medicine, Children's Hospital of Philadelphia, Philadelphie, Etats-Unis
10. Roberts Individualized Medical Genetics Center, Children's Hospital of Philadelphia, Philadelphie, Etats-Unis
11. Service de génétique, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
12. Département de génétique médicale, CHU Montpellier, Montpellier, France
13. Laboratoire de Génétique Chromosomique, CHU Grenoble Alpes, Grenoble, France
14. Service de génétique, CHU Reims, Reims, France
15. St Vincent's Clinical School, University of New South Wales, Darlinghurst, New South Wales, Australie
16. Centre de Génétique, Centre de Référence Maladies Rares "Anomalies du Développement", CHU Dijon, Dijon, France
17. Equipe GAD, UMR INSERM 1231, Université de Bourgogne, Dijon, France
18. Division of Genetics and Genomic Medicine, Washington University School of Medicine, St. Louis, Missouri, Etats-Unis
19. The Genetics of Learning Disability Service, Hunter Genetics, Waratah, New South Wales, Australie
20. Service de génétique médicale, CHU Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, France
21. Service de biochimie génétique, Hôpital Henri Mondor, Paris, France
22. Department of clinical genetics, University Hospital Linköping, Linköping, Suède
23. Service de génétique, CHU Rouen, Rouen, France
24. Service de génétique médicale, CHU Nantes, Nantes, France
25. Department of clinical genetics, Children's Hospital of Philadelphia, Philadelphie, Etats-Unis
26. Centre de Génétique, Centre de Référence Maladies Rares , CHU Dijon, Dijon, France
27. Medical Genetics Unit, Anna Meyer Children's University Hospital, Florence, Italie
28. St Vincent's Clinical School, University of New South Wales, Darlinghurst, Australie
29. Department of Pediatrics, Regional Hospital Ryhov, Jonkoping, Suède
30. Department of Pediatric Neurology, Charité-Universitätsmedizin Berlin, Berlin, Allemagne
31. Unité Fonctionnelle de Génétique Clinique, Hôpital Robert Debré, Paris, France
32. Genetikum, Genetikum, Neu-Ulm, Allemagne
33. Section of Genetics and Metabolism, University of Arkansas for Medical Sciences, Little Rock, Arkansas, Etats-Unis
34. Research Group Development and Disease, Max Planck Institute for Molecular Genetics, Berlin, Allemagne

Mots clefs : MED13L ; déficience intellectuelle ; complexe médiateur ; cardiopathie

Résumé :

Les variations pathogènes impliquant *MED13L* ont été rapportées chez des patients présentant des déficiences intellectuelles modérées à sévères, avec des traits faciaux communs et associées ou non à des cardiopathies congénitales. Ces variations très majoritairement tronquantes conduisent à son haploinsuffisance et très peu de données ont été recueillies concernant l'implication des variations faux-sens.
A travers une étude collaborative internationale impliquant des centres experts, nous avons pu collecter les données clinico-biologiques de 30 patients présentant des variations pathogènes de *MED13L*.

L'ensemble des patients présentait une déficience intellectuelle associé à des troubles sévères du langage. Les principales caractéristiques cliniques étaient marquées par une hypotonie, une ataxie et des traits faciaux communs dont une pointe de nez bulbeuse, une bouche hypotonique et semi-ouverte, et un philtrum profond. Aucun des patients recrutés ne présentait de cardiopathie congénitale. Nous avons pu identifier 5 nouveaux faux-sens pathogènes *de novo* chez 6 patients, 16 variations tronquantes *de novo* et 5 délétions intragéniques *de novo*. Trois variations ponctuelles étaient récurrentes, soit dans la cohorte, soit déjà rapportées dans la littérature : c.1708_1709del ; c.6485C > T ; c.6488C > T. Nous n'avons pas observé de différences dans les phénotypes de patients présentant des variations tronquantes et ceux présentant des variations faux-sens.
Cette étude confirme l'importance des variations faux-sens dans les causes moléculaires associées au syndrome *MED13L,* dont les conséquences phénotypiques sont superposables aux variations tronquantes et suggérant qu'elles pourraient également conduire à un mécanisme de perte de fonction. Les signes cliniques observés permettent également de déterminer un spectre phénotypique associé au syndrome *MED13L*, dont la cardiopathie est peu fréquente contrairement aux premières descriptions du syndrome.

CO094 : Le syndrome de Wiedemann-Steiner, une cause majeure de déficience intellectuelle syndromique : retour sur la cohorte française de 33 cas

Auteurs :

Baer Sarah (1, 2), Alexandra Afenjar (3), Thomas Smol (4), Amélie Piton (2, 5), Bénédicte Gérard (2), Yves Alembik (1), Thierry Bienvenu (6), Guilaine Boursier (7), Odile Boute (8), Cindy Colson (8), Marie-Pierre Cordier (9), Valérie Cormier-Daire (10), Bruno Delobel (11), Martine Doco-Fenzy (12), Bénédicte Duban-Bedu (11), Mélanie Fradin (13), David Geneviève (14), Alice Goldenberg (15), Maud Grelet (16), Damien Haye (17), Delphine Heron (17), Bertrand Isidor (18), Boris Keren (19), Didier Lacombe (20), Anne-Sophie Lèbre (21), Gaetan Lesca (9), Alice Masurel (22), Michèle Matthieu-Dramard (23), Caroline Nava (19), Laurent Pasquier (24), Alexandra Petit (23), Nicole Philip (16), Juliette Piard (25), Sophie Rondeau (10), Pascale Saugier-Veber (26), Sylvie Sukno (8), Julien Thevenon (27), Julien Van-Gils (28), Catherine Vincent-Delorme (8), Marjolaine Willems (29), Gilles Morin (23), Elise Schaefer (1)

1. Service de Génétique Médicale, Institut Génétique Médical d'Alsace, Hopitaux universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
2. Laboratoire de Diagnostic Génétique, Hopitaux universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
3. unité de Génétique, Hopital Armand Trousseau-La Roche Guyon, APHP, Paris, France
4. Insitut de Génétique Médicale, Hôpital Jeanne de Flandre, CHRU de Lille, lille, France
5. Insitut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire, CNRS U7104, INSERM U964, Université de Strasbourg, Illkirch, France
6. Insitut Cochin, INSERM U1016, CNRS UMR8104, Université Paris Descartes, Paris, France
7. Laboratoire de Génétique Moléculaire, maladies auto-inflammatoires et maladies rares, Département de Génétique Médicale, Maladies rares et médecine personnalisée, CHRU de Montpellier, Montpellier, France
8. Service de Génétique Clinique, CHRU de Lille, Lille, France
9. Service de Génétique Médicale, Hospices Civiles de Lyon, Lyon, France
10. Département de Génétique, INSERM UMR1163, Insitut Imagine, Hopital Necker-Enfants-Malades, Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, APHP, Paris, France
11. Centre de Génétique Chromosomique, Groupe Hospitalier de l'Institut Catholique de Lille, Lille, France
12. Service de Génétique , CHU de Reims, Reims, France
13. Service de Génétique Clinique, CHU de Rennes, Rennes, France
14. Département de Génétique Médicale, INSERM U1183, CHRU de Montpellier, montpellier, France
15. Service de Génétique Médicale, chu de Rouen, Rouen, France
16. Département de Génétique Médicale, Assistance Publique Hôpitaux de Marseille, Marseille, France
17. Service de Génétique Clinique, Unité fonctionelle de Génétique Médicale, CHU Paris - GH La Pitié Salpetrière - Charles Foix, Paris, France
18. Service de Génétique Médicale, CHU de Nantes, Nantes, France
19. Unité fonctionnelle de génomique du développement, centre de Génétique Moléculaire et Chromosomique, CHU Paris - GH La Pitié Salpetrière - Charles Foix, Paris, France
20. Département de Génétique Médicale, CHU Bordeaux, Bordeau, France
21. Laboratoire de Génétique, Service de Génétique et Biologie de la Reproduction, CHU de Reims, Reims, France
22. Centre de Génétique, CHU Dijon, Dijon, France
23. Service de Génétique Clinique, CHU Amiens Picardie, Amiens, France
24. Service de Génétique Clinique, CHU Rennes, Rennes, France
25. Centre de Génétique Humaine, Université de Franche-Comté, CHU Besancon, Besancon, France
26. Département de Génétique, INSERM U1079, Institut pour la recherche et l'innovation en Biomédecine, CHU Rouen, Université de Rouen, Rouen, France
27. Equipe d'accueil 4271, Génétique des Anomalies du Développement, Université de Bourgogne, Dijon, Dijon, France
28. Département de Génétique Médicale, CHU Bordeaux, Bordeaux, France
29. Département de Génétique Médicale, INSERM U1183, CHRU de Montpellier, Montpellier, France

Résumé :

La déficience intellectuelle est un trouble neurodéveloppemental hétérogène sur le plan génétique. Plus de 500 gènes ont été décrits comme impliqués dans des formes syndromiques ou non de déficience intellectuelle (DI). Le syndrome de Wiedemann-Steiner (WSS, MIM# 605130) est un syndrome qui associe une déficience intellectuelle à une petite taille, une hypertrichose des coudes et une dysmorphie faciale caractéristique. Le gène impliqué dans le syndrome (*KMT2A*) a été identifié en 2012 et depuis seulement 27 cas de WSS avec un diagnostic moléculaire et une description clinique ont été rapportés dans la littérature. Il ne se dégage aucun critère ni sensible ni spécifique de ces descriptions.
Nous rapportons la plus grande cohorte de patients WSS jamais décrite comportant 33 patients français avec des mutations dans *KMT2A* identifiées par séquençage ciblé, séquençage haut-débit de panels ou séquençage d'exome initialement suspects ou non de WSS. Les données biologiques et cliniques des patients ont été colligées et comparées aux données de la littérature.

Sur le plan moléculaire, notre cohorte comprend 30 mutations différentes, dont 25 jamais rapportées (7 mutations faux-sens, 11 frameshift, 6 non-sens et 1 d'épissage). Nous rapportons 3 observations de transmission autosomique dominante (toujours mère-fils) ainsi que le premier cas décrit de mosaïcisme somatique avec deux enfants tous deux porteurs de la même mutation retrouvée chez leur père dans une faible proportion de cellules.
Sur le plan clinique, on retrouve un spectre phénotypique large avec une déficience intellectuelle légère à sévère, une dysmorphie typique ou non du WSS et des malformations diverses associées (osseuses, cérébrales, rénales, cardiaques et ophtalmologiques). Même si l'hypertrichose était considérée comme pathognomonique dans la littérature, elle n'est retrouvée que chez 61% des cas de notre cohorte. Nous n'avons pas retrouvé de corrélation génotype-phénotype significative.
Le gène *KMT2A* fait partie de la plupart des panels de gènes étudiant la DI. Parmi les patients étudiés sur celui du Laboratoire de Diagnostic Génétique de Strasbourg, le gène *KMT2A* apparaît comme l'un des gènes les plus fréquemment mutés (0.86%). Cette observation est retrouvée dans des grandes cohortes de patients avec DI étudiés en exome. *KMT2A* semble donc être un gène majeur de DI avec un spectre phénotypique extrêmement variable allant de la DI légère à des formes syndromiques sévères.

CO095 : Néomutations dans H3F3A et H3F3B codant l'histone H3.3 impliquées dans une nouvelle forme de déficience intellectuelle syndromique : à propos d'une série de 21 patients

Auteurs :

Sandra Mercier (1), Benjamin Cogné (1), Thomas Besnard (2), Jean-François Deleuze (3), Boris Keren (4), Sébastien Küry (1), Caroline Nava (4), Richard Redon (5), Sylvie Odent (6), Stéphane Bézieau (2), H3F3A/B consortium (7)

1. Service de Génétique Médicale, CHU de Nantes, Nantes, France
2. CHU Nantes, Service de Génétique Médicale, Unité de Génétique Moléculaire, , Nantes, France
3. Centre National de Recherche en Génomique Humaine, Institut de Biologie François Jacob, Direction de la Recherche Fondamentale, , CEA, Evry, France
4. Département de Génétique, AP-HP, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Paris, France
5. l'institut du thorax, INSERM, CNRS, UNIV Nantes, CHU Nantes, Nantes, France
6. Service de Génétique Clinique, CNRS UMR6290, CHU Rennes, Université Rennes, Rennes, France
7. Center for Applied Genomics and Department of Human Genetics, Children's Hostpial of Philadelphia, Philadelphia, Etats-Unis

Mots clefs : Histone, H3F3A, H3F3B, déficience intellectuelle

Résumé :

Les histones sont des protéines nucléaires dont les modifications post-traductionnelles (MPT) entrainent une modulation de leur rôle au cours de nombreux processus comme la réparation de l'ADN, l'expression des gènes, la mitose et la méiose. Nous rapportons une série internationale de 21 patients porteurs de mutations hétérozygotes faux-sens dans les gènes *H3F3A* et *H3F3B*, codant l'histone H3.3. Au total, 16 mutations différentes ont été identifiées par séquençage d'exome ou de génome et sont survenues *de novo* chez tous les patients. Alors que des mutations somatiques de *H3F3A* et *H3F3B* sont bien connues pour favoriser certains cancers pédiatriques, aucun patient de la série n'a développé de processus tumoral. Le phénotype comporte un retard psychomoteur ou une déficience intellectuelle (21/21), souvent sévère, avec en particulier une épilepsie (12/21), une régression psychomotrice (5/21), une spasticité (5/21), et une surdité (5/21). Sur le plan malformatif, on retrouve une microcéphalie (9/21), une dysmorphie faciale (17/21), ainsi que des anomalies cérébrales (6/20) et des malformations cardiaques (3/21). Des études fonctionnelles sur lignées lymphoblastoïdes et fibroblastes de patients ont montré (i) un profil anormal des MPT sur les histones mutées suggérant une dérégulation locale de la structure de la chromatine, (ii) une surexpression de gènes impliqués dans la mitose et la division cellulaire et (iii) une capacité proliférative augmentée des cellules de patients versus contrôles. En conclusion, nous montrons que des néomutations dans H3F3A et H3F3B sont impliquées dans un nouveau trouble neurodéveloppemental. Les conséquences fonctionnelles de ces mutations faux-sens semblent différentes de celles connues dans le cancer et pourraient être une cible thérapeutique pour ces patients.

CO096 : Recherche de nouveaux gènes d'agénésie du corps calleux dans une cohorte de 48 patients avec ou sans déficience intellectuelle, par séquençage d'exome

Auteurs :

Agnès Rastetter (1), Solveig Heide (2), Caroline Nava (3), Boris Keren (2), Anne Faudet (2), Fabien Lesne (2), Tania Attié-Bitach (4), Thierry Billette de Villemeur (5), Lucile Boutaud (6), Perrine Charles (7), Vincent Desportes (8), Laurence Faivre (9), Christine Francannet (10), Didier Lacombe (11), Marie-Laure Moutard (5), Christel Thauvin (9), Annick Toutain (12), Lionel Van-Maldergem (13), Alain Verloes (14), Sandra Whalen (15), Christel Depienne (16), Cyril Mignot (17), Delphine Héron (18)

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. Département de Génétique et de Cytogénétique, AP-HP, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Paris, France
3. 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
4. INSERM U781, Institut IMAGINE, Département de Génétique AP-HP, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
5. Service de Neuropédiatrie, Hôpital Trousseau, Paris, France
6. AP-HP, Département de Génétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
7. AP-HP, Département de génétique, Hôpital de La Salpêtrière, Paris, France
8. CHU de Lyon HCL, Service de neurologie pédiatrique, Hôpital Femme Mère Enfant, Lyon, France
9. CHU Dijon Bourgogne, Centre de génétique, Hôpital François Mitterrand, Dijon, France
10. CHU de Clermont-Ferrand, Service de génétique médicale, Hôpital d'Estaing, CLERMONT-FERRAND , France
11. CHU Bordeaux, Service de génétique médicale ; INSERM U1211, GH Pellegrin , Bordeaux, France
12. CHU Tours, Service de Génétique, Hôpital Bretonneau, Tours, France
13. CHRU de Besançon, Centre de génétique humaine , Hôpital Saint-Jacques , BESANÇON, France
14. AP-HP, Département de Génétique, Hôpital Robert Debré, Paris, France
15. AP-HP, UF de Génétique Clinique, Hôpital Armand-Trousseau, paris, France
16. Institüt für Humangenetik, Universitätsklinikum Essen, Essen, Allemagne
17. Département de Génétique et de Cytogénétique, AP-HP, Centre de Référence "déficiences intellectuelles de causes rares", Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Paris, France
18. 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 + développement cognitif normal + conseil génétique.

Résumé :

Le corps calleux (CC) est la principale commissure transversale du cerveau, composée de faisceau d'axones interconnectant les deux hémisphères cérébraux. L'agénésie du corps calleux (ACC) correspond à une absence complète ou partielle du corps calleux. Un large spectre clinique est associé aux ACC, allant de la déficience intellectuelle (DI) à un développement cognitif normal. L'ACC est généralement découverte au cours de la période prénatale, lors de 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, alors que dans les ACC isolées, 70% des enfants ont un développement intellectuel normal. Les ACC sont très hétérogènes sur le plan génétique et, dans un tiers de cas environ, elles entrent dans le cadre de syndromes connus.
L'objectif de cette étude était d'identifier de nouveaux gènes d'ACC, chez des patients ayant 1) un développement cognitif normale (n=9), 2) avec une DI modérée à sévère (n=33), 3) des fœtus interrompus, ayant une ACC isolée ou associée à des malformations (cérébrales ou extra-cérébrales) (n=6). Nous avons séquencé par exome (Capture SeqCap EZ Exome de NimbleGen puis séquençage Illumina sur NextSeq500) 48 patients en trio (n=45) ou en quatuor (n=3). Seize patients avaient déjà eu une analyse d'un panel de 423 gènes préalablement associés à une ACC chez l'homme ou chez la souris, qui n'avait abouti à aucun diagnostic.
Un diagnostic a été réalisé chez 19/48 patients (40%) dans 19 gènes différents. Pour les patients ayant une DI, un diagnostic a été fait chez 12/33 (36%) dans les gènes *ADD3, PPP2R1A, TUBB3, RBMX, MED12, PAK3, KDM5C, TRAPPC11, ARID1B, ARX, COG6 et ZDHHC9.* Deux diagnostics ont été réalisés parmi les 9 patients sans DI (22%), dans les gènes *ZEB1* et *DCC*. Enfin, un diagnostic a été fait chez 5 des 6 fœtus étudié (83%), dans les gènes *TCF12, EFNB1, AMPD2, TUB1A1 et CREBBP*.
Chez 8 autres patients, un gène candidat a pu être proposé en raison de la fonction de la protéine dans le développement cérébral. Enfin, 3 patients ont une mutation dans un gène impliqué dans la DI, mais ont un phénotype discordant avec celui classiquement associé aux mutations de ce gène (par exemple une mutation de *MYT1L*, impliqué dans la DI chez un patient avec une ACC et un syndrome d'Asperger, ou une mutation de *CREBBP* chez une patiente avec un syndrome de West et une dysmorphie faciale non évocatrice d'un syndrome de Rubinstein-Taybi).
Ces résultats confirment la grande hétérogénéité génétique des ACC. L'augmentation de la cohorte ainsi que les collaborations avec les consortiums internationaux seront nécessaires pour valider les gènes candidats. L'identification de nouveaux gènes et

leurs corrélations génotype-phénotype permettront d'établir un conseil génétique approprié pour les couples confrontés à la détection d'une ACC en prénatal.

CO097 : KEOPS, une pyramide de nouveaux gènes impliqués dans le syndrome de Galloway-Mowat (syndrome néphrotique et microcéphalie)

Auteurs :

Géraldine Mollet (1), Christelle Arrondel (1), Daniela Braun (2), Jia Rao (2), Olivier Gribouval (1), Olivia Boyer (1, 3), Bruno Collinet (4, 5), Gaëlle Martin (1), Dominique Liger (4), Laurine Buscara (1), Sophia Missoury (6), Anne-Claire Boschat (7), Sylvia Sanquer (8, 9), Daniella Magen (10), Albertien Van Eerde (11), Rozemarijn Snoek (11), Marina Charbit (3), Stéphane Decramer (12), Robert Novo (13), Marie-Alice Marcher (14), Bruno Ranchin (15), Audrey Laurent (15), Friedhelm Hildebrandt (2), Herman Van Tilbeurgh (4), Corinne Antignac (1, 16)

1. Laboratoire des maladies rénales héréditaires, Inserm UMR1163, Institut Imagine, Université Paris Descartes-Sorbonne Paris Cité, Paris, France
2. Department of Medicine, Boston Children's Hospital, Harvard Medical School, Boston, Etats-Unis
3. Service de néphrologie pédiatrique, Hôpital Necker-Enfants malades, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Paris, France
4. Institut de Biologie Intégrative de la Cellule (I2BC), CEA, CNRS, Université Paris-Sud, Université Paris-Saclay, Gif-sur-Yvette, France
5. UFR 927, Science de la Vie, Sorbonne Université UPMC, Paris, France
6. Institut de Biologie Intégrative de la Cellule (I2BC), CEA, CNRS, Université Paris-Sud, Université Paris-Saclay, Paris, France
7. Plateforme de Spectrométrie de Masse, Institut Imagine, Paris, France
8. Département de Biochimie Métabolomique et Protéomique, Hôpital Necker, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Paris, France
9. Inserm UMR-S1124, Université Paris Descartes-Sorbonne Paris Cité , Paris, France
10. Pediatric Nephrology Institute, Rambam Health Care Campus, Haifa, Israël
11. Department of Genetics, University Medical Center Utrecht, Utrecht, Pays-Bas
12. Département de Néphrologie, Médecine interne et Hypertension, Centre des Maladies Rénales Rares, Hôpital des enfants, CHU de Toulouse, toulouse, France
13. Service de Néphrologie Pédiatrique, Centre Hospitalier Universitaire de Lille, Hôpital Jeanne de Flandre, Lille, France
14. Département de Néphrologie Pédiatrique, Hôpital Robert Debré, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Paris, France
15. Service de Néphrologie Rhumatologie Dermatologie Pédiatrique, Hospices Civils de Lyon, Hôpital Femme-Mère-Enfant de Lyon, Bron, France
16. Département de Génétique, Hôpital Necker, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Paris, France

Mots clefs : Rein, Syndrome Néphrotique, Microcéphalie, podocyte, ARNt, modification t6A

Résumé :

Les formes héréditaires de syndrome néphrotique (SN) sont rares mais présentent une très grande hétérogénéité génétique et clinique. Leur étude a permis d'identifier plus de 40 gènes, tous exprimés par le podocyte, une cellule épithéliale hautement spécialisée jouant un rôle crucial dans le fonctionnement de la barrière de filtration glomérulaire. Parmi les formes syndromiques de SN, le syndrome de Galloway-Mowat (GAMOS) (MIM 251300), de transmission autosomique récessive, se caractérise par l'association d'un SN cortico-résistant (SNCR), d'une microcéphalie et d'anomalies du système nerveux central. Le premier gène, *WDR73*, impliqué dans le GAMOS a été identifié récemment par notre groupe. Depuis, en collaboration avec le groupe de F. Hildebrandt (Boston, USA), nous avons identifié, par séquençage d'exomes, des mutations dans 4 autres gènes dans un sous-groupe d'enfants (37 patients de 32 familles) présentant un SNCR précoce associé à une microcéphalie congénitale et notamment à des anomalies de gyration allant de la lissencéphalie à la pachygyria et à la polymicrogyrie, et à l'hypoplasie cérébelleuse.
Ces quatre gènes, *OSGEP*, *LAGE3*, *TP53RK* et *TPRKB*, codent les 4 sous-unités du complexe KEOPS qui catalyse la thréonylcarbamoylation de l'adénosine en position 37 (t6A) des ARNt décodant les codons ANN, une modification universelle des ARNt essentielle à l'initiation et l'efficacité de la traduction. Par des études de complémentation dans des levures délétées pour le gène *Kae1*, orthologue d'*OSGEP*, nous avons identifié deux classes fonctionnelles de mutations OSGEP correspondant à des allèles hypomorphes et amorphes, ces dernières étant incapables de restaurer le défaut de croissance de la souche délétée. De plus, l'invalidation de ces gènes chez le poisson-zèbre et la souris récapitule le phénotype humain de la microcéphalie et entraîne une létalité précoce. Dans des lignées de podocytes humains, leur invalidation aboutit à une diminution du niveau de t6A, en particulier pour OSGEP, à des défauts de la traduction protéique, à un stress du réticulum endoplasmique, à une prolifération et une migration altérées, et finalement à l'apoptose (Braun et al. *Nat. Genet.*2017).
De façon fascinante, nous avons identifié des mutations dans le gène *C14orf142*, codant la 5ème sous-unité du complexe KEOPS (C14) chez 11 patients de 5 familles présentant une forme plus atténuée de la maladie, ainsi que dans le gène *YRDC*, qui code la seconde enzyme qui catalyse la modification t6A, chez des 2 patients de 2 familles présentant un phénotype très sévère similaire à celui des patients mutés pour les autres sous-unités de KEOPS. Nos résultats préliminaires suggèrent que la protéine C14 joue un rôle sur la stabilité du complexe KEOPS.

Nous avons donc identifié des mutations dans six gènes codant tous les composants impliqués dans la biosynthèse de la modification t6A, ce qui confirme le rôle unique de cette modification dans la pathogenèse du GAMOS.

Mollet G-Assises de génétique Nantes-2018-Final.docx

CO098 : Les mutations du gène TFE3 sont responsables d'un syndrome neuro-cutané avec déficience intellectuelle et hypopigmentation, par mosaïcisme génétique ou fonctionnel

Auteurs :

Daphné Lehalle (1), Jean-Baptiste Rivière (2), Magali Avila (2), Yannis Duffourd (2), Laurence Duplomb-Jego (2), Benjamin Cogné (3), J.M. De Bont (4), Floor Duijkers (5), David Geneviève (6), Alice Goldenberg (7), Nada Houcinat (2), Thibaud Jouan (2), Paul Kuentz (1), K.D. Lichtenbelt (8), Laurent Pasquier (9), Judith St-Onge (2), Julien Thevenon (1), Koen L.I. Van Gassen (10), Mieke Van Haelst (5), Silvana Van Koningsbruggen (5), Christel Thauvin (1), Pierre Vabres (2), Laurence Faivre (1)

1. Fédération Hospitalo-Universitaire Médecine Translationnelle et Anomalies du Développement (TRANSLAD), Centre Hospitalier Universitaire Dijon, 21079 Dijon, France, Dijon, France
2. Equipe GAD, INSERM LNC UMR 1231, Faculté de Médecine, Université de Bourgogne Franche-Comté, Dijon, France
3. Laboratoire de génétique Moléculaire, CHU Nantes, Nantes, France
4. Department of Pediatric Neurology, Wilhelmina Children's Hospital, Medical Center Utrecht, Utrecht, Pays-Bas
5. Department of Genetics, AMC, Amsterdam, Pays-Bas
6. Service de Génétique Médicale, CHU de Montpellier, Montpellier, France
7. Service de Génétique Médicale, CHU de Rouen - Hôpital Charles Nicolle 76031 Rouen, Rouen, France
8. Department of Genetics, University Medical Center Utrecht, Utrecht, Pays-Bas
9. Service de Génétique Médicale, INSERM 1414, CHU Rennes, Rennes, France
10. Department of Genetics, Medical Center Utrecht, Utrecht, Pays-Bas

Mots clefs : TFE3, mosaïcisme pigmentaire, hypomélanose d'Ito, déficience intellectuelle

Résumé :

Le mosaïcisme pigmentaire, ou hypomélanose d'Ito, se manifeste par une hypopigmentation le long des lignes de Blashko, souvent associée à une déficience intellectuelle syndromique. Dans le cadre d'un programme de recherche visant à identifier les bases moléculaires du mosaïcisme pigmentaire, nous avons réalisé un séquençage haut-débit d'exome en trio sur ADN extrait de peau chez 26 patients, et identifié chez deux individus de sexe féminin un variant germinal faux-sens, de novo, dans le gène TFE3, localisé sur le chromosome X. Grâce au partage des données nous avons ensuite identifié cinq autres patients porteurs d'un variant dans le gène TFE3, germinal, faux-sens et de novo chez trois filles, et en mosaïque post-zygotique, respectivement tronquant et faux-sens, chez une fille et un garçon. Tous les individus porteurs présentaient une déficience intellectuelle sévère, pour certains associée à une épilepsie, un retard de croissance, une hépatomégalie néonatale, des anomalies othopédiques, une obésité, une dysmorphie avec des traits épais et un hirsutisme, une dysplasie frontonasale, et chez six d'entre eux, une hypopigmentation blashkoïde. L'étude d'inactivation de l'X était en faveur d'un biais chez la seule patiente sans anomalie pigmentaire ; l'inactivation était aléatoire dans les fibroblastes de deux autres patientes avec mutation germinale. Des études fonctionnelles précédemment publiées étaient en faveur d'un effet gain de fonction de ces mutations faux-sens, toutes localisées dans les exons 3 et 4 du gène. TFE3 est un facteur de transcription appartenant à la voie MTOR. TFE3 joue un rôle crucial dans la sortie de la pluripotence des cellules souche embryonnaires, et le métabolisme lysosomal et énergétique des cellules. Son rôle dans le développement a récemment été démontré. Cette série de sept patients porteurs d'une mutation dans le gène TFE3 permet une meilleure caractérisation du phénotype de ce syndrome neuro-cutané récemment identifié, et confirme l'implication de ce gène et de la voie MTOR dans le mosaïcisme pigmentaire, ouvrant la voie à des thérapeutiques ciblées.

CO099 : Les mutations du gène fdxr entraînent des neuropathies sensorielles, étendant le spectre des atteintes de la synthèse des protéines à centre fer-soufre.

Auteurs :

Antoine Paul (1), Anthony Drecourt (1), Floriane Petit (1), Myriam Oufadem (1), Christelle Vasnier (2), Delphine Dupin-Deguine (3), Cécile Masson (1), Crystel Bonnet (4), Saber Masmoudi (5), Isabelle Mosnier (6), Laurence Mahieu (7), Didier Bouccara (6), Josseline Kaplan (1), Georges Challe (8), Christelle Domange (9), Fanny Mochel (10), Oliviers Sterkers (6), Sylvie Gerber (1), Patrick Nitschke (1), Christine Bole-Feysot (1), Laurence Jonard (11), Souad Gherbi (11), Ines Ben Aissa (11), Stanislas Lyonnet (1), Agnès Rötig (1), Agnès Delahodde (2), Sandrine Marlin (1)

1. UMR1163, Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, Institut Imagine, Paris, France
2. Institute for Integrative Biology of the Cell (I2BC), CEA, CNRS, Univ. Paris-Sud, Université Paris-Saclay, Gif-sur-Yvette, France
3. Service de Génétique Médicale , Hôpital Purpan, Toulouse, France
4. UMRS 1120, Institut de la Vision, Paris, France
5. Laboratory of Molecular and Cellular Screening Processes, Center of Biotechnology of Sfax, Sfax, Tunisie
6. Service d'ORL, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France
7. Service d'ophtalmologie, Hôpital Rangueil, Toulouse, France
8. Service d'ophtalmologie, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France
9. Service d'ORL, Hôpital Lariboisière, Paris, France
10. Département de Génétique, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France
11. Service de Génétique, Laboratoire de Génétique Moléculaire, Hôpital Necker-Enfants , Paris, France

Mots clefs : Surdité, Cécité, Neuropathie, sensorielle, enfants, exome.

Résumé :

Les déficits auditifs et les atteintes visuelles observés dans l'enfance sont souvent d'origine génétique, certains d'entre eux sont liés à une neuropathie sensorielle. Nous rapportons dans cette étude huit patients, issus de 4 familles, présentant une neuropathie auditive et une atrophie optique. L'étude d'exome a révélé des mutations bialléliques localisées sur le gène FDXR chez les sujets atteints. FDXR code pour une protéine mitochondriale appelée la ferredoxin reductase, impliquée dans la synthèse des centres fer-soufre (CFS) ainsi que dans la formation de l'hème. Les protéines à CFS ont un rôle dans la catalyse enzymatique, la réplication et la réparation de l'ADN. Nous avons observé une dérégulation de l'homéostasie du fer dans les cellules fibroblastiques des patients présentant des mutations du gène FDXR, ainsi que des preuves indirectes de surcharge ferrique intracellulaire. Les tests de complémentation chez la levure dont le gène ARH1, orthologue du gène humain FDXR, a été supprimé, démontrent la pathogénicité des mutations. Ces nouvelles données soutiennent la diversité du spectre clinique des atteintes mitochondriales liées à la synthèse des protéines à CFS.

CO100 : Dysplasie cléidocranienne: histoire naturelle des manifestations osseuses

Auteurs :

Alinoë Lavillaureix (1, 2), Caroline Michot (1), Geneviève Baujat (1), Gérard Maruani (3), Michel Polak (4), Muriel De la Dure-Molla (5), Jean-Claude Souberbielle (6), Valérie Cormier-Daire (7)

1. Génétique médicale - Centre de Référence Maladies Osseuses Constitutionnelles, APHP - Hôpital Necker-Enfants Malades - Institut Imagine - INSERM UMR 1163 - Université Paris Descartes Sorbonne Paris Cité, Paris, France
2. Génétique clinique, CHU de Rennes - Hôpital Sud, Rennes, France
3. Service d'explorations fonctionnelles, AP-HP - Hôpital européen Georges-Pompidou, Paris, France
4. Service d'endocrinologie, gynécologie et diabétologie pédiatrique, APHP - Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
5. Service d'Odontologie, AP-HP - Hôpital Rothschild, Paris, France
6. Laboratoire d'explorations fonctionnelles, APHP - Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
7. Génétique médicale - Centre de Référence Maladies Osseuses Constitutionnelles, CHU Paris - Hôpital Necker-Enfants Malades - Institut Imagine, Paris, France

Mots clefs : Dysplasie cléidocranienne; RUNX2; densitométrie osseuse; fractures; minéralisation osseuse; PTH; vitamine D

Résumé :

La dysplasie cléidocranienne (DCC) est une maladie autosomique dominante rare, dont la prévalence est estimée comme inférieure à 1/100 000. Il s'agit d'une dysplasie squelettique dont les signes les plus caractéristiques sont la fermeture retardée des sutures crâniennes avec fontanelle large à la naissance, des clavicules hypoplasiques ou aplasiques, une petite taille et de multiples anomalies dentaires. Les anomalies dentaires sont la cause majeure de morbidité dans la maladie, avec une prise en charge longue et coûteuse en raison d'un retard d'éruption des dents définitives et de multiples germes surnuméraires. Le diagnostic est clinico-radiographique et peut être confirmé par l'étude moléculaire du gène RUNX2 « Runt related transcription factor 2 ». Ce gène code pour un facteur de transcription essentiel pour la différentiation de la cellule souche mésenchymateuse en ostéoblaste, spécifique de l'os. Il régule l'ossification intra-membraneuse et endochondrale pendant la squeletogénèse embryonnaire et postnatale. RUNX2 joue également un rôle dans le remodelage osseux, la formation et l'éruption dentaire. L'étude moléculaire de RUNX2 détecte des variants pathogènes chez environ 70 % des individus DCC. Des délétions du gène sont retrouvées dans environ 10% des cas. L'histoire naturelle de la DCC est mal connue. Des cas isolés de patients présentant des fractures multiples ou une ostéoporose ont été décrits, sans évaluer les autres facteurs de risque potentiels de fragilité osseuse.
Le but de cette étude est d'évaluer la minéralisation osseuse et la survenue de fractures chez des patients présentant une DCC à différents âges.
Nous avons recueilli au cours d'une étude observationnelle les données clinico-radiologiques, le bilan phosphocalcique, les marqueurs du remodelage osseux et les données de densitométrie osseuse de 45 patients DCC âgés de 9 mois à 60,8 ans (médiane=15,4 ans).
7% des patients évalués ont eu au moins une fracture sans traumatisme (3/45). 32% (13/41) des patients ont une hyperparathyroïdie secondaire, facteur de risque reconnu d'ostéopénie en raison de l'augmentation de la résorption osseuse induite par la parathormone et 20% (8/41) des patients présentent un déficit en Vitamine D (25-OH D < 20ng/mL). L'analyse de la DMO montre que le Z-score au niveau lombaire de 38,7% des patients (12/31) est inférieur à -2DS.
Ces résultats indiquent la nécessité d'une prévention active de l'ostéoporose et des fractures chez les patients atteints de DCC, en s'assurant dès leur plus jeune âge d'apports suffisants en calcium et vitamine D, mais aussi d'une activité physique régulière pour permettre l'acquisition optimale/maximale de masse osseuse à l'âge adulte.

Resume_assises_genetique_2017Lavillaureix.docx

CO101 : Mutations du gène WNT10A dans les agénésies dentaires multiples : précisions sur la penetrance incomplète, la variabilité d'expression et les corrélations genotype-phénotype

Auteurs :

Olivier Patat (1), Isabelle Bailleul-Forestier (2), Julie Plaisancié (1), Dominique Bonneau (3), Estelle Colin (4), Cindy Colson (5), Marie-Pierre Cordier-Alex (6), Christine Coubes (7), Florence Demurger (8), Anne Dieux-Coeslier (9), Mélanie Fradin (8), Marion Gerard (5), Alice Goldenberg (10), Bertrand Isidor (11), Hubert Journel (12), Didier Lacombe (13), Marine Lebrun (14), Dominique Martin-Coignard (15), Mathilde Nizon (11), Sylvie Odent (8), Florence Petit (9), Nicole Philip (16), Juliette Piard (17), Ghislaine Plessis (5), Audrey Putoux (18), Chloe Quelin (8), Julien Thevenon (19), Annick Toutain (20), Clémence Vanlerberghe (9), Alain Verloes (21), Catherine Vincent-Delorme (9), Yline Capri (22), Frédéric Vaysse (2), Calvas Patrick (1), Nicolas Chassaing (1)

1. Génétique médicale, CHU Toulouse Purpan, Toulouse, France
2. Odontologie et traitement dentaire, Faculté de chirurgie dentaire, Toulouse, France
3. Service de Génétique, CHU Angers, Angers, France
4. Service de Génétique, CHU Angers, angers, France
5. Service de Génétique, CHU Caen, Caen, France
6. Service de Génétique, CHU Lyon HCL-GH Edouard Herriot, Lyon, France
7. Département de Génétique Médicale, CHU Montpellier, Montpellier, France
8. Service de Génétique Clinique, CHU Rennes - Hôpital Sud, Rennes, France
9. Service de génétique clinique Guy Fontaine, CHRU Lille - Hôpital Jeanne de Flandre, Lille, France
10. Unité de génétique clinique, CHU Rouen - Hôpital Charles Nicolle, Rouen, France
11. Unité de génétique clinique, CHU de Nantes -Hôtel Dieu, Nantes, France
12. Génétique médicale, CHBA Centre Hospitalier Bretagne Atlantique - CH Chubert, Vannes, France
13. Service de Génétique Médicale, CHU de Bordeaux - GH Pellegrin, Bordeaux, France
14. Service de génétique clinique chromosomique et moléculaire, CHU Saint-Etienne - Hôpital Nord, Saint-Etienne, France
15. Service de Génétique, Centre Hospitalier du Mans, Le mans, France
16. Unité de génétique clinique, CHU de Marseille - Hôpital de la Timone, Marseille, France
17. Centre de Génétique Humaine, CHU de Besancon, Besancon, France
18. Service de Génétique Clinique, CHU Lyon HCL-GH Edouard Herriot, Lyon, France
19. Service de Génétique Clinique, CHU de Grenoble site Nord - Hôpital Couple-Enfant, Grenoble, France
20. Service de Génétique, CHRU de Tours - Hôpital Bretonneau, Tours, France
21. Unité de Génétique Clinique, CHU Paris - Hôpital Robert Debré, Paris, France
22. Unité de génétique clinique, CHU Paris - Hôpital Robert Debré, Paris, France

Mots clefs : WNT10A, agénésie dentaire, oligodontie, hypodontie, dysplasie ectodermique, odontogénétique

Résumé :

L'agénésie de dents permanentes est une malformation fréquente chez l'Homme. Les termes d'hypodontie ou d'oligodontie sont classiquement utilisés pour désigner respectivement l'agénésie de six dents ou moins ou de plus de six dents, sans compter les troisièmes molaires. Les hypodonties ou oligodonties peuvent être isolées ou s'associer à des anomalies du développement d'autres dérivés ectodermiques que sont principalement les follicules pileux et les cheveux, les ongles et les glandes sudoripares, s'intégrant ainsi dans le cadre nosologique des dysplasies ectodermiques. Les mutations du gène *WNT10A* sont une cause fréquente d'hypodontie ou d'oligodontie avec ou sans signe de dysplasie ectodermique associé. Grâce à l'étude d'une série de 413 cas index adressés pour hypodontie ou oligodontie et de 190 apparentés, nous rapportons le génotype et le phénotype de 395 individus porteurs d'au moins une mutation dans le gène *WNT10A*. Parmi les 52 mutations différentes identifiées, 32 n'ont pas été rapportées précédemment, et deux sont des mutations récurrentes, la c.682T > A (p.Phe228Ile) et la c.321C > A (p.Cys107Ter), impliquées respectivement dans 178 et 33 familles. Nous décrivons des particularités dans la répartition des agénésies dentaires associées aux mutations dans le gène *WNT10A* et une grande variabilité phénotypique ainsi qu'une corrélation entre le nombre de mutations de *WNT10A*, le nombre d'agénésies dentaires et la présence de signes de dysplasie ectodermique associés. Nous montrons un lien entre le type de mutation, tronquante ou faux-sens, et le nombre d'agénésies dentaires. Nous confirmons la pénétrance incomplète de ces mutations, y compris lorsqu'elles sont bialléliques, et donnons une estimation de cette pénétrance.

PATAT O Abstract assises2018.docx

CO102 : La perte de fonction de VGLL2 est responsable d'une synostose maxillo-mandibulaire congénitale isolée

Auteurs :

Aude Tessier (1), Christopher Gordon (2), Ersoy Konas (3), Eddy Becking (4), Christine Bole Freysot (5), Michael Cunningham (6), Raoul Hennekam (4), Hülya Kayserili (7), Stanislas Lyonnet (1), Patrick Nitschke (8), Mathilde Nizon (9), Arnaud Picard (10), Jeanne Amiel (1)

1. UMR1163, Institut Imagine, Paris, France
2. UMR1163, Institut imagine, Paris, France
3. Chirurgie maxillo-faciale, Hacettepe University, Ankara, Turquie
4. Department of Pediatrics, Emma Children's Hospital, University of Amsterdam, Amsterdam, Pays-Bas
5. Plateforme Génomique, Institut Imagine, Paris, France
6. Division of Craniofacial Medicine, University of Washington, Seattle, Etats-Unis
7. Department of Medical Genetics, Koç University, School of Medicine, Istambul, Turquie
8. Plateforme Bioinformatique , Institut Imagine, Paris, France
9. Service de Génétique, CHU Nantes, Nantes, France
10. Service chirurgie Maxillo faciale, Centre de référence MAFACE, Hopital Necker, Paris, France

Mots clefs : maladies rares, malformation cranio faciale, NGS, exome, syngnathie, effet fondateur, développement

Résumé :

La syngnathie est une malformation rare de la face qui peut être soit d'origine fibreuse, par synéchies gingivales soit osseuse par synostose. Cette malformation est diagnostiquée dès la naissance devant une limitation de l'ouverture buccale. Une micrognathie, une fente du palais postérieure ainsi qu'une asymétrie de la face pour les formes unilatérales, peuvent être associées. Jusqu'à ce jour, aucune base moléculaire n'est identifiée pour cette malformation mais un mode de transmission autosomique récessif est suspecté en raison d'un sexe ratio équilibré, de cas de récidive dans la fratrie et/ou de parents apparentés.
Nous rapportons ici 3 patients présentant une syngnathie osseuse isolée et une mutation perte de fonction homozygote du gène *Vestigial like 2* (*VGLL2)*. Chez le premier patient, né de parents apparentés cousins germains, une analyse d'exome a permis d'identifier la mutation p.Glu67* à l'état homozygote. Le séquençage Sanger du gène *VGLL2* chez les patients 2 et 3 a identifié la même mutation p.Gln151* à l'état homozygote. Compte tenu de l'origine géographique de ces deux patients, un effet fondateur a été suspecté et confirmé par l'étude des haplotypes au locus du gène *VGLL2*. *Vestigial* est un gène homéotique très conservé à travers les espèces et fortement exprimé dans les 1ers et 2èmes arcs branchiaux chez le poisson zèbre et la souris. Nous montrons qu'il est également exprimé précocement dans le 1er arc pharyngé chez l'Homme.
Nos résultats démontrent que les mutations perte de fonction homozygotes du gène *VGLL2* sont responsables de certaines syngnathies osseuses non syndromiques. Une hétérogénéité est fortement suspectée car 5 autres patients de notre cohorte ne présentent pas de mutation de ce gène.

CO103 : Diagnostic de l'albinisme ,formes simples et syndromiques: analyse moléculaire d'une cohorte de 990 patients.

Auteurs :

Eulalie Lasseaux (1), Claudio Plaisant (1), Laetitia Gaston (2), Vincent Michaud (1), Perrine Pennamen (2), Aurélien Trimouille (1), Solene Monferme (3), Sébastien Moutton (4), Didier Lacombe (1), Caroline Rooryck-Thambo (1), Fanny Morice-Picard (5), Benoit Arveiler (1)

1. Service de Génétique Médicale, CHU Bordeaux, Bordeaux, France
2. Service de Génétique Médicale, CHU Bordeaux , BORDEAUX, France
3. Service Ophtalmologie, CHU Bordeaux , BORDEAUX, France
4. Service de Génétique Médicale, CHU Dijon, Dijon, France
5. Service de Dermatologie Pédiatrique, CHU Bordeaux, Bordeaux, France

Mots clefs : Albinisme, cohorte, NGS, Panel

Résumé :

L'albinisme est une affection génétique hétérogène sur le plan clinique et génétique caractérisée par des anomalies du développement oculaire et un degré variable d'hypopigmentation. On distingue trois grandes formes d'albinisme : oculo-cutané, oculaire et syndromique. Le caractère multi systémique de l'albinisme rend nécessaire l'organisation de consultations avec des spécialistes de différentes disciplines: dermatologie, ophtalmologie, génétique, et éventuellement hématologie, gastro-entérologie, pneumologie. Pour ces raisons, une consultation multidisciplinaire a été mise en place d'un hôpital de jour au CHU de Bordeaux en 2014. L'intérêt majeur du test génétique est de distinguer les formes syndromiques (avec complications) et formes non syndromiques. Le diagnostic d'une forme syndromique permet la mise en place d'un suivi particulier sur les plans hématologique, gastro-entérologique, pulmonaire, infectieux ou neurologique. La définition des différents types d'albinisme, autrefois basée sur le phénotype clinique, repose aujourd'hui sur une classification moléculaire en fonction des mutations identifiées dans différents gènes, au nombre de 19 à ce jour. Le test génétique constitue le seul moyen d'établir un diagnostic de certitude. Une cohorte de 990 patients a été analysée et un diagnostic a pu être établi pour 683 d'entre eux (environ 70%) : Albinisme oculo-cutanée OCA1 à 7 : 42% AOC1 (*TYR*) ; 26,8% AOC2 (*OCA2*) ; 2,2% AOC3 (*TYRP1*) ; 10,5% AOC4 (*SLC45A2*) ; 2,6% AOC6 (*SLC24A5*) ; 0,4% OCA7 (*C10Orf11=LRMDA)* ; Albinisme oculaire : 6,9% AO (*GPR143*) ; 0,6% FHONDA (*SLC38A8*) Syndrome d'Hermanski Pudlak : 2% HPS1 (*HPS1*) ; 0,4% HPS3 (*HPS3*) ; 0,3% HPS4 (*HPS4*) ; 1,5% HPS5 (*HPS5*) ; 1,6% HPS6 (*HPS6*) ; 0,1% HPS7 (*DTNBP1*) ; 0,3% HPS8 (*BLOC1S3*) ; Syndrome de Chediak Higashi : 0,3% CHS (*LYST*) ; 13% des patients sont porteurs d'une mutation hétérozygote et 18% ne présentent aucune mutation dans ces gènes. L'utilisation du NGS panel 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 un nombre important de patients restent sans diagnostic moléculaire. Ceci pourrait être dû à l'existence de mutations dans les introns ou des sites régulateurs éloignés, et/ou à l'existence d'autres gènes. Un panel recherche avec des gènes impliqués dans les voies de la pigmentation a été développé afin d'analyser tous les patients à ce jour sans diagnostic moléculaire. Sur le plan médical et scientifique, la caractérisation clinico-moléculaire du plus grand nombre de patients permet d'améliorer la connaissance de la maladie, et particulièrement la définition clinique des différentes entités nosologiques et l'établissement de corrélations entre phénotype et génotype. Cette démarche de soin global complète a permis la constitution d'une cohorte de patients atteints d'albinisme bien caractérisés d'un point de vue du phénotype et du génotype.

CO104 : Génétique des neuropathies optiques héréditaires et dynamique mitochondriale, lien pathophysiologique.

Auteurs :

Majida CHARIF (1), Sylvie Gerber (2), Patrizia AMATI-BONNEAU (1), Dominique BONNEAU (1), Cécile Delettre (3), Josseline Kaplan (2), Stéphanie LERUEZ (1), Isabelle MEUNIER (4), Agathe Roubertie (3), Vincent PROCACCIO (1), Pascal REYNIER (1), Xavier Zanlonghi (5), Christian HAMEL (3), Jean-Michel ROZET (2), Guy LENAERS (1)

1. Equipe MitoLab, Institut MitoVasc, UMR CNRS 6015 INSERM 1083, Université d'Angers, Angers, France
2. Laboratoire de Génétique Ophtalmologique, Institut Imagine, Paris, France
3. Génétique et thérapies des neuropathies optiques héréditaires, Institut des Neurosciences de Montpellier, U1051 de l'INSERM, Montpellier, France
4. Génétique et thérapies des neuropathies optiques héréditaires, Institut des Neurosciences de Montpellier, U1051 de l'INSERM, Angers, France
5. Service d'Ophtalmologie, Clinique Jules Vernes, Nantes, France

Mots clefs : neuropathies optiques héréditaires, dynamique mitochondriale, diagnostic génétique

Résumé :

Les neuropathies optiques héréditaires (NOH) représentent la forme la plus fréquente de cécité génétique, liée à une dégénérescence des Cellules Ganglionnaires de la Rétine (CGRs), neurones qui transduisent l'information visuelle de la rétine au cerveau au travers des nerfs optiques. La forme la plus fréquente est la neuropathie optique de Kjer ou atrophie optique dominante, essentiellement liée à des mutations dans le gène *OPA1*, codant une dynamine intra-mitochondriale, impliquée dans la dynamique du réseau mitochondrial par fusion les membranes externes et internes. D'autres pathologies neurodégénératives comme certaines formes de Charcot-Marie-Tooth, d'ataxie spinocérébelleuse, de paraplégies spastiques ou d'encéphalopathies sévères sont aussi associées à des altérations de gènes impliqués dans la dynamique mitochondriale, respectivement MFN2, DNM2, AFG3L2, SPG7 et DNM1L. Néanmoins, en criblant par NGS l'ensemble de ces gènes au sein de la cohorte nationale de patients atteints d'une NOH, hébergée au CHU d'Angers, nous avons identifié des mutations pathogènes dans l'ensemble de ces gènes dans des formes dominantes de NOH. Il ressort de ces études, que la dynamique mitochondriale est un élément clé dans le maintien de la physiologie des CGRs, et qu'un équilibre subtil entre les forces de fusion et fission des mitochondries est requis pour l'homéostasie et la survie du nerf optique. Nous discuterons des corrélations génotypes-phénotypes, en mettant en exergue un modèle physiopathologique qui pour la première fois dans l'univers des mitochondriopathies permet d'expliquer la spécificité d'atteinte tissulaire des CGRs.

Abstract GLenaers AGH 2018.docx

CO105 : La technique Chromium (10X Genomics) permet-elle réellement une meilleure identification et compréhension des remaniements chromosomiques complexes ? A propos de 16 cas.

Auteurs :

Yannis Duffourd (1), Valérie Malan (2), Jean Michel Dupont (3), Nicolas Chatron (4), Antonio Vitobello (1, 5), Pierre-Antoine Rollat-Farnier (6), Céline Baulard (7), Marc Lelorch (2), Claire Jubin (7), Emilie Tisserand (1), Frédéric Tran Mau-Them (1, 5), Marc Delepine (7), Till Marianne (4), Vincent Meyer (7), Claire Bardel (6, 8), Stanislas Lyonnet (9), Anne-Laure Mosca-Boidron (10), Julien Thevenon (11), Laurence Faivre (1, 12), Christel Thauvin-Robinet (1, 13), Christophe Philippe (1, 14), Caroline Schluth-Bolard (4), Robert Olaso (7), Patrick Callier (10), Serge Romana (15), Jean François Deleuze (7), Damien SANLAVILLE (4)

1. UMR1231 GAD, Inserm - Université Bourgogne-Franche Comté, Dijon, France, INSERM, Dijon, France
2. Service de Cytogénétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, APHP, Paris, APHP, Paris, France
3. Institut Cochin, INSERM U1016 ; Université Paris Descartes - Faculté de Médecine ; APHP, HUPC, site Cochin, Laboratoire de Cytogénétique, AP-HP, Paris, France
4. Service de Génétique, Laboratoire de Cytogénétique, CHU de Lyon,, HCL, Lyon, France
5. Unité Fonctionnelle d'Innovation en Diagnostic génomique des maladies rares, FHU-TRANSLAD, CHU Dijon Bourgogne, Dijon, France, CHU de Dijon, Dijon, France
6. HCL, Cellule bioinformatique de la plateforme NGS du CHU Lyon, Lyon, France, HCL, Lyon, France
7. Centre National de Recherche en Génomique Humaine (CNRGH), CEA, Evry, France, CEA, Evry, France
8. Université Lyon 1, CNRS, Laboratoire de Biométrie et Biologie Evolutive UMR5558, Villeurbanne, France, CNRS, Lyon, France
9. Service de Génétique, Hôpital Necker Enfants Malades, APHP et Institut Imagine, Paris, AP-HP, Paris, France
10. Laboratoire de Génétique Chromosomique et Moléculaire, CHU de Dijon, CHU de Dijon, Dijon, France
11. Service de Génétique, CHU de Grenoble, Grenoble, France , CHU de Grenoble, Grenoble, France
12. Centre de génétique, FHU-TRANSLAD, CHU Dijon Bourgogne, Dijon, France, CHU de Dijon, Dijon, France
13. centre de génétique, FHU-TRANSLAD, CHU Dijon Bourgogne, Dijon, France, CHU de Dijon, Dijon, France
14. unité Fonctionnelle d'Innovation en Diagnostic génomique des maladies rares, FHU-TRANSLAD, CHU Dijon Bourgogne, Dijon, France, CHU de Dijon, Dijon, France
15. Service de Cytogénétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, APHP, Paris, AP-HP, Paris, France

Mots clefs : whole genome sequencing, remaniements chromosomiques complexes, chromosome, linked-reads, Chromium 10x Genomics

Résumé :

L
Les variations structurales génomiques (SV) regroupent les variations du nombre de copies (CNV) déséquilibrées et les remaniements équilibrés (BCA). Les remaniements chromosomiques sont dits complexes (CCR) lorsqu'ils impliquent au moins deux chromosomes et trois points de cassure ou plus. Le développement du séquençage de nouvelle génération permet de séquencer l'ensemble d'un génome humain (WGS) en quelques jours et ouvre la voie à l'identification des SV. Contrairement aux variations nucléotidiques, les CNV et BCA sont beaucoup plus difficiles à identifier en raison des techniques de séquençage utilisées (lectures courtes) et des outils bioinformatiques de détection encore peu adaptés. Afin de résoudre ces difficultés, des techniques permettant le séquençage de longs fragments (séquençage de troisième génération) se développent. La majorité de ces techniques en cours de développement ne sont actuellement pas adaptées à une utilisation en routine diagnostique dans le cadre de la génétique humaine. La technologie Chromium® proposée par la société 10X Genomics offre une alternative au séquençage longs fragments. Cette approche (dite des linked-reads) permet de reconstituer de grandes régions génomiques par haplotypage, grâce à un bare-coding puis un assemblage de lectures courtes issues d'un même long fragment d'ADN, lui-même isolé lors de la préparation de la librairie. Afin d'évaluer son efficacité dans l'identification des CCR, mais aussi de remaniements chromosomiques difficiles à détecter et de l'expansion de triplets CGG, une analyse par WGS a été effectuée après préparation des longs fragments d'ADN par technologie Chromium® et séquençage sur HiSeq X (Illumina). Nous avons inclus dans cette étude 16 patients pour lesquels des remaniements chromosomiques étaient déjà connus ou caractérisés en partie : 5 probables chromoagenesis, 7 translocations réciproques plus ou moins complexes, 1 translocation robertsonienne et 3 expansions de triplets au niveau du locus FRAXA. L'objectif principal de l'étude était de savoir si le procédé de préparation de librairie Chromium® permettrait une meilleure identification et compréhension des CCR. Les objectifs secondaires sont 1) évaluer l'impact de la qualité de l'ADN sur les résultats obtenus après WGS (ADN extrait dans les conditions standards du laboratoire *versus* ADN extrait pour obtenir des molécules d'ADN de haut poids moléculaire), 2) développer des pipelines d'analyse robustes et fiables pour l'analyse de ce type de données, et comparer la suite logicielle proposée par 10X Genomics à ces pipelines, 3) évaluer la capacité à caractériser correctement les répétitions de triplets au locus FRAXA, 4) évaluer la pertinence de cette approche pour identifier des remaniements impliquant des régions répétées du génome (translocation robertsonienne).

L'ensemble des données de WGS ont été générées par le CNRGH et les résultats des analyses bio-informatiques seront présentés lors des Assises de génétique.

resume_assises_Nantes_2010DS_CNRGHvsoumisefinal.docx

CO106 : Etude des Topologically Associated Domains (TADs) en diagnostic : retour d'expérience du CHU de Bordeaux

Auteurs :

Aurélien Trimouille (1, 2), Angela Tingaud-Sequeira (2), Perrine Pennamen (1, 2), Gwenaelle André (3), Julie Bouron (1), Cécile Boucher (1), Patricia Fergelot (1, 2), Didier Lacombe (1, 2), Benoit Arveiler (1, 2), Caroline Rooryck-Thambo (1, 2)

1. Génétique médicale, Hôpital Pellegrin - CHU Bordeaux, Bordeaux, France
2. INSERM U1211, Hôpital Pellegrin - CHU Bordeaux, Bordeaux, France
3. Service de Pathologie, Hôpital Pellegrin - CHU Bordeaux, Bordeaux, France

Mots clefs : Topologically Associated Domains, 3D Genome, Chromosome Conformation Capture, ACPA, CNV

Résumé :

L'étude de l'architecture tridimensionnelle de la chromatine par la technologie de Hi-C, dérivée de la Chromosome Conformation Capture (3C), a mis en lumière l'existence de domaines chromatiniens dénommés Topologically Associated Domains (TADs).
L'altération de l'organisation des TADs, et les interactions ectopiques entre séquences régulatrices et gènes en résultant peuvent être à l'origine de différentes anomalies du développement.
La technique d'Analyse Chromosomique sur Puce à ADN (ACPA), utilisée en routine dans le diagnostic des anomalies du développement, se heurte à des difficultés d'interprétation. De nombreuses variations du nombre de copies (CNVs) ainsi détectées par ACPA restent de signification inconnue, leur contenu en gènes ne pouvant expliquer à lui seul le phénotype du patient. Cependant depuis peu, l'effet de ces CNVs sur les TADs peut être pris en compte dans cette interprétation.
Au sein du laboratoire de Génétique Moléculaire du CHU de Bordeaux, nous avons ré-analysé 735 CNVs détectés par ACPA et initialement considérés comme probablement bénins ou de signification inconnue, afin de déterminer si ceux-ci peuvent altérer l'organisation des TADs. En parallèle de cette ré-analyse, la mise au point d'un protocole de 3C est actuellement en cours, afin de pouvoir à terme confirmer *in vitro* ces modifications de l'architecture chromatinienne.
Une nouvelle interprétation de ces 735 CNVs a ainsi été effectuée en utilisant différents jeux de données publiques d'expériences de Hi-C et de marques épigénétiques issues du projet ENCODE, ainsi que de différentes bases de données d'enhancers.
Cette étude nous a permis de mettre en évidence une possible altération de TAD chez 7 patients. Un de ces cas concerne notamment un fœtus dont la grossesse a été interrompue pour une association malformative complexe, et qui présente une délétion au locus du gène *IHH*. Le modèle de l'architecture chromatinienne à ce locus permet de prédire une interaction ectopique entre *IHH* et les enhancers situés dans le TAD du gène *EPHA4*, induite par cette délétion.
Le rendement de la ré-analyse de notre cohorte (7/735), concordant avec une étude réalisée dans un cadre similaire, met en lumière le fait que la perturbation de TADs par un CNV est probablement un mécanisme physiopathologique rare, au sein d'une cohorte de patients présentant des anomalies du développement.
De plus, les limites techniques de l'ACPA telle que réalisée en routine, ainsi que celles des annotations disponibles dans les bases de données publiques, sont autant d'obstacles à l'interprétation de l'effet des CNVs sur les TADs.
Si l'étude des TADs dans le cadre du diagnostic apparait donc aujourd'hui comme possible, notamment pour les loci dont l'architecture est désormais caractérisée, celle-ci reste complexe, et nécessite une confirmation par des techniques *in vitro* telles que celles dérivées de la 3C.

TAD Assises Nantes_PF.docx

CO107 : Nécessité d'adapter le pipeline bioinformatique d'analyse des données de séquençage haut débit d'exome pour la recherche de données secondaires. Expérience à partir d'une cohorte de 700 tests consécutifs

Auteurs :

Yannis Duffourd (1, 2), Emilie Tisserant (2), Julien Thevenon (1, 2), Sophie Nambot (2, 3), Angeline Bruel (4), Patrick Callier (1, 5), Anne-Laure Mosca-Boidron (2, 5), Philippine Garret (2, 6), Charlotte Poé (2), Thibaut Jouan (2), Martin Chevarin (2, 5), Robert Olaso (7), Anne Boland (7), Frédéric Tran Mau-Them (2, 5), Christophe Philippe (8), Maxime Luu (9), Christine Binquet (10), Jean-François Deleuze (7), Céline Verstuyft (11, 12), Laurence Faivre (13, 14), Christel Thauvin-Robinet (13, 15)

1. FHU TRANSLAD, Centre Hospitalier Universitaire et Université de Bourgogne-Franche Comté, Dijon, France
2. UMR Inserm 1231 GAD « Génétique des Anomalies du Développement », Université de Bourgogne Franche-Comté, Dijon, France
3. Centre de Génétique et Centre de Référence Maladies Rares 'Anomalies du Développement de l'Interrégion Est, CHU Dijon, Dijon, France
4. UMR Inserm 1231 GAD « Génétique des Anomalies du Développement », CHU Dijon, Dijon, France
5. Unité Fonctionnelle Innovation en diagnostic génomique des maladies rares, CHU Dijon, Dijon, France
6. , Laboratoire Cerba, St-Ouen L'Aumône, France
7. Institut de Génomique, CNRGH, Evry, France
8. UMR 1231 équipe GAD, Génétique des Anomalies du Développement, Univ. Bourgogne Franche-Comté, Dijon, France
9. CIC 14 32 - module plurithématique, CHU Dijon, Dijon, France
10. CIC 1432, CHU Dijon, Dijon, France
11. Laboratoire de génétique moléculaire, pharmacogénétique et hormonologie, GHU Paris-Sud - Hôpital de Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France
12. Unité UMR 1184, Université Paris-Sud, Le Kremlin-Bicêtre, France
13. FHU TRANSLAD, CHU Dijon, Dijon, France
14. Centre de référence Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs, CHU Dijon, Dijon, France
15. UMR 1231 équipe GAD, Génétique des Anomalies du Développement, Université de Bourgogne Franche-Comté, Dijon, France

Mots clefs : Séquençage Haut Débit, Exome, Données secondaires, Bioinformatique

Résumé :

Avec l'intégration du séquençage haut débit d'exome ou de génome (WES/WGS) dans la pratique clinique, il est possible d'identifier ou de rechercher des données incidentales ou secondaires (DS), non liées à l'indication du séquençage, mais avec un intérêt médical pour le patient. L'ACMG (American College of Medical Genetics and Genomics) recommande de rechercher, interpréter et rendre aux patients, les variations pathogènes d'un minimum de 59 gènes médicalement actionnables.
Afin d'évaluer les implications en termes d'organisation des soins, nous avons mené une étude rétrospective qui évalue la fréquence et les conséquences d'introduire la recherche de variations pathogènes et probablement pathogènes (classe IV et V) à partir des données de WES de 700 patients atteints d'atteints d'anomalies du développement ou de déficience intellectuelle. Afin d'évaluer les conséquences d'un spectre de DS large, une liste étendue de 234 gènes actionnables pour les soins et le conseil génétique a été conçue, avec analyse en sous-groupe (Liste ACMG étendue, hétérozygotie pour les maladies récessives les plus fréquentes en France ou conductrices de déficiences intellectuelles liées à l'X (DILX)).
Devant l'absence de détection de certaines mutations fréquentes, nous avons constaté que l'analyse bioinformatique s'est heurtée à différentes difficultés : le mauvais alignement de certaines lectures, notamment en cas de pseudogène (délétion de *SMN1, CYP21A2*) a conduit à l'absence de détection de certaines mutations; les défauts d'annotation de certaines variations (*CFTR*-rs199826652 / p.F508del); les anomalies d'annotation de la séquence de référence utilisée (F5-rs6025). A noter que le WES ne détecte par ailleurs pas les mutations non exoniques, telle que le *F2*-rs1799963 (2010G-A variant), localisée en région 3' UTR. Une adaptation du pipeline a ainsi été effectuée pour les variations *CFTR*-rs199826652 et F5-rs6025, mais aucune solution n'a pu être apportée pour les défauts d'alignements en cas de pseudogène.
Au final, nous avons identifié 33 variations pathogènes ou probablement pathogènes chez 60 patients (9 %), incluant patients cas avec des variations dans les gènes responsables de prédisposition à une pathologie à début plus tardif, 27 patients hétérozygotes pour des gènes avec un statut d'hétérozygote fréquent en France et 2 conductrices de DILX. En l'absence d'adaptation du pipeline, nous n'aurions identifié que 38/60 patients puisque 22 patients sont porteurs de la variation *CFTR*-rs199826652, soit un total de 5% au lieu de 9%.
Cette étude montre que la recherche de DS sur les données de WES ne permet pas d'identifier certaines variations connues comme actionnables, et nécessite un ajustement du pipeline bioinformatique utilisé. Ces difficultés devront être anticipées lors du déploiement de ces technologies de SHD pangénomiques, notamment dans le cadre du futur plan France Médecine Génomique 2025.

CO108 : Premières analyses d'un modèle animal unique pour le prolapsus valvulaire mitral: le rat KI FLNA-P637Q

Auteurs :

Romain Capoulade (1), Le Scouarnec Solena (1), Benjamin Lauzier (2), Simon Lecointe (2), Gilles Toumaniantz (2), Joelle Veziers (3), Rochard Redon (2), Thierry Le Tourneau (2), Jean-Jacques Schott (2), Jean Mérot (2)

1. , l'institut du thorax - Inserm UMR 1087/CNRS UMR 6291, nantes, France
2. , l'institut du thorax - Inserm UMR 1087/CNRS UMR 6291, Nantes, France
3. , REMS - Inserm UMR1229, Nantes, France

Mots clefs : prolapsus valvulaire mitral, modèle animal, knock-in, phénotypage

Résumé :

Introduction : Le prolapsus valvulaire mitral (PVM) est une pathologie cardiovasculaire des plus fréquentes. Le PVM a été jusqu'à très récemment considéré comme une pathologie dégénérative du sujet âgé, mais de récentes avancées en génétique ont permis d'identifier le premier gène causal de cette pathologie et trois mutations faux-sens sur le gène *FLNA* codant pour la Filamine A (FlnA) ont ainsi été décrites. De plus, le phénotypage approfondi des patients a récemment mis en lumière une expression particulière de la maladie, pouvant être définie comme un nouveau type de dystrophie de la valve mitrale mais aucun modèle animal n'était jusqu'à présent disponible pour déterminer les mécanismes impliqués dans le développement du PVM/dystrophie de la valve mitrale lié à *FLNA*. Nous présentons ici les premiers résultats d'un modèle animal unique que nous avons développé: un rat transgénique Knock-In (KI) pour l'une des mutations (*FLNA*-P637Q).
Méthodes : Un modèle de rat Knock-In (KI) pour la mutation *FLNA*-P637Q, mutation ayant été découverte dans la plus grande famille (> 300 individus) de PVM, a été développé en utilisant la technologie de type CRISPR. Le phénotypage complet des rats à 3, 6 et 12 semaines a été réalisé en utilisant diverses approches complémentaires (histologie, microCT et échocardiographie).
Résultats : Les résultats préliminaires réalisés à 3 et 6 semaines confirment la présence d'une dystrophie valvulaire mitrale. En effet, les feuillets valvulaires mitraux sont significativement épaissis lors de l'analyse des coupes histologiques chez des rats KI comparativement aux contrôles. L'analyse et la caractérisation de la valve mitrale par microCT et reconstruction 3D de cœurs explantés de rat permet de confirmer la présence de dystrophie valvulaire mais aussi de quantifier dans son ensemble l'atteinte valvulaire : le volume des valves mitrales est augmenté comparé aux rats contrôles. Les échocardiographies réalisées chez les rats KI attestent elles aussi de la présence d'une dystrophie valvulaire mitrale, la fonction valvulaire mimant les caractéristiques rapportées chez l'humain.
Conclusion : Ce travail a permis de démontrer que le modèle de rat KI pour la mutation *FLNA*-P637Q développe un PVM/dystrophie valvulaire mitrale similaire à celui observé chez les patients. Cette étude valide donc le modèle et ouvre de bonnes perspectives quant à l'identification des mécanismes impliqués dans le développement de la maladie et celle de cibles thérapeutiques potentielles pour la traiter.

CO109 : Bilan du PHRC National AOM10108 : Identification des gènes et des mécanismes pathogéniques associés aux formes familiales d'anévrysme de l'aorte thoracique (TAA)

Auteurs :

Pauline ARNAUD (1, 2), Nadine HANNA (1, 2), Louise BENARROCH (2), Sophie DUPUIS-GIROD (3), Sophie NAUDION (4), Laurence BAL (5), Yves DULAC (6), Laurence FAIVRE (7), Bruno LEHEUP (8), Sylvie ODENT (9), Jordan GARCIA (1), Maud LANGEOIS (10), Laurent GOUYA (10), Guillaume JONDEAU (10, 2), Catherine BOILEAU (1, 2)

1. Département de Génétique, Hôpital Bichat, AP-HP, PARIS, France
2. INSERM U1148, Hôpital Bichat, PARIS, France
3. Service de Génétique Clinique, HCL-GHE, Hôpital Femme-Mère-Enfant, BRON, France
4. Service de Génétique Médicale, CHU Bordeaux-GH Pellegrin, Bordeaux, France
5. Service de Chirurgie Vasculaire, Hôpital Timone Adultes, Marseille, France
6. Service d'hôpital de jour de cardiologie et endocrinologie pédiatrique, CHU Toulouse - Hôpital des enfants, Toulouse, France
7. Centre de Génétique - Pôle Pédiatrie, CHU Dijon Bourgogne - Hôpital F. Miterrand, Dijon, France
8. Service de Génétique Clinique, CHU Nancy, Hôpital de Brabois, VANDOEUVRE-LES-NANCY, France
9. Service de Génétique Clinique, CHU Rennes - Hôpital Sud, Rennes, France
10. Centre National Maladies Rares, Syndrome de Marfan et apparentés, Hôpital Bichat, AP-HP, PARIS, France

Mots clefs : Anévrismes de l'aorte thoracique, Diagnostic moléculaire, PHRC, Nouveaux gènes

Résumé :

Les anévrysmes de l'aorte thoracique (TAA), dont l'incidence est estimée à environ 5 sujets pour 100 000 par an, peuvent conduire à des dissections de type A. Ils peuvent survenir soit de façon isolée soit dans un contexte syndromique [syndromes de Marfan (MFS), d'Ehlers-Danlos (EDS), de Loeys-Dietz (LDS),…]. Vingt pour cent des patients présentant un TAA non syndromique ont un apparenté du premier degré atteint. Dans ces formes familiales, on observe le plus souvent une mode de transmission autosomique dominant (AD).
L'objectif de ce PHRC (Programme Hospitalier de Recherche Clinique) initié en 2010 a été dans un premier temps de préciser dans les formes non syndromiques l'implication des différents gènes connus. Par la suite, les patients pour lesquels aucune mutation n'a été identifiée nous ont permis de constituer une cohorte homogène et bien phénotypée pour la recherche de nouveaux gènes de TAA.
Matériel et Méthodes
232 cas index ont été inclus dans ce PHRC. Ceux-ci ont été recrutés au niveau national dans le Centre de Référence Maladies Rares « Syndrome de Marfan et pathologies apparentées » ou dans l'un des centres de compétences associés. Les critères d'inclusion étaient la présence d'un TAA non syndromique chez un sujet de 45 ans maximum ou de plus de 45 ans présentant une forme familiale de TAA. Les critères d'exclusion étaient les TAA syndromiques, la présence d'une hypertension artérielle ou d'une bicuspidie.
Un séquençage haut débit de l'ensemble des gènes connus de TAA (25 gènes) a été réalisée pour chacun d'entre eux (panel à façon Nimblegen Roche® ou TSCA Illumina®). En cas de résultat négatif dans les formes familiales, le recrutement a été élargi aux apparentés. Pour 5 familles pour lesquelles nous disposions d'ADN d'au moins 3 individus atteints, un Whole Exome Sequencing a été entrepris.
Résultats
Soixante-dix pourcent des cas index recrutés sont des cas familiaux. Sur l'ensemble de la cohorte, un variant ou une mutation a été trouvée dans 30% des cas (gènes *SMAD3, FBN1, TGFBR2, TGFBR1, ACTA2, TGFB2, LOX, MYLK, MYH11, FBN2*). Il s'agit dans 75% des cas de patients avec des antécédents familiaux de TAA (forme familiale). L'analyse par WES a permis à notre équipe d'identifier, à travers des collaborations internationales, les gènes *LOX* et *MFAP5* comme de nouveaux gènes impliqués dans les formes familiales de TAA. D'autres gènes candidats sont en cours d'exploration.
Conclusion
Ce travail nous a permis de dresser une cartographie de la contribution des différents gènes à la maladie dans cette population française. De ce projet va découler une stratégie nationale standardisée de diagnostic et de prise en charge clinique des TAA non syndromiques. Par ailleurs, ce projet nous a permis d'identifier, à travers des collaborations internationales, de nouveaux gènes de TAA dont les gènes *LOX* et *MFAP5*.

Arnaud - Assises Génétique - PHRC-TAA.docx

CO110 : Une mutation dans le gène TRIM3 potentiellement responsable de SNCR autosomique dominant via un défaut du recyclage vésiculaire.

Auteurs :

Guillaume Dorval (1, 2), Evelyne Huynh Cong (1), Gribouval Olivier (1), Géraldine Mollet (3), Iain Drummond (2), Corinne Antignac (1)

1. INSERM UMR1163 - Laboratoire des maladies rénales héréditaires, Institut Imagine, Paris, France
2. Division of Nephrology, Department of Medicine, Massachusetts General Hospital, Boston, Etats-Unis
3. INSERM UMR1163 - Laboratoire des maladies rénales héréditaires, Institut Imagine, paris, France

Mots clefs : Syndrome néphrotique cortico-résistant - podocytopathies - mutations - TRIM3 - Exome - zebrafish

Résumé :

Le syndrome néphrotique cortico-résistant (SNCR) est une maladie caractérisée par une protéinurie massive et le plus souvent associée à des lésions histologiques de hyalinose focale et segmentaire (HSF). Les mutations identifiées dans les gènes impliqués dans les rares formes de SNCR héréditaires sont responsables d'une altération de la barrière de filtration glomérulaire. En effet, la plupart des protéines codées par ces gènes sont exprimée dans le podocyte (une cellule épithéliale hautement différenciée dont les pieds s'enroulent autour des capillaires glomérulaires pour contrôler la filtration glomérulaire). Les protéines du cytosquelette jouent un rôle majeur dans la physiologie des podocytes.
Par séquençage d'exome dans une famille avec quatre individus atteints de SNCR de survenue tardive, et de transmission potentiellement autosomique dominante, nous avons identifié une mutation faux-sens (c.82C>T-p.Arg28Trp) dans le gène *TRIM3 (tripartite-motif containing 3*). Dans les neurones, la protéine TRIM3 est connue pour jouer un rôle dans le trafic vésiculaire le long des fibres d'actine dans un complexe protéique incluant la protéine α-actinine 4 (*ACTN4*). Des mutations dans le gène *ACTN4* ont déjà été décrites dans les SNCR de transmission autosomique dominante. Nous avons d'abord montré que seule l'injection d'ARNm TRIM3 muté dans des embryons de poisson-zèbre conduisait à la survenue d'un œdème péricardique, témoin indirect de lésions glomérulaires chez les poissons. Des analyses en microscopie électronique dans les poissons exprimant la protéine mutante ont mis en évidence un effacement des pédicelles ou une morphologie anormale des pédicelles restants. Ces anomalies n'étaient pas retrouvées chez les poissons exprimant la forme humaine WT de TRIM3. La protéinurie glomérulaire a été confirmée par la mise en évidence d'une réabsorption tubulaire de dextran fluorescent 6h après son injection dans la veine cardinale à 96h post-fertilisation. Dans les podocytes en culture, nous avons montré un défaut de localisation de TRIM3 p.Arg28Trp au niveau des fibres d'actine, lié à sa rétention dans le réticulum endoplasmique en immunofluorescence. En dépit d'une interaction normale entre TRIM3 et l'α-actinine 4, le trafic vésiculaire le long des fibres d'actine était perturbé, mis en évidence par un retard dans le recyclage de la transferrine. Une autre mutation du gène p.Arg433Cys a récemment été trouvée chez un autre patient avec une atteinte sporadique. Les analyses préliminaires chez le poisson zèbre ont montré la présence d'un œdème péricardique après injection avec de l'ARNm muté. Ces données suggèrent que les mutations dominantes dans la protéine TRIM3 semblent conduire à un défaut de trafic cellulaire de certaines protéines dans le podocyte, comme cela a déjà été décrit dans d'autres formes génétiques de SNCR, conduisant à la survenue d'une protéinurie et de SNCR chez les patients.

CO111 : Maladie de Fabry : résultats de l'essai clinique international multicentrique contrôlé d'une chaperone pharmacologique (migalastat) chez les hommes atteints de la forme classique de la maladie de Fabry.

Auteurs :

Dominique P. GERMAIN (1, 2), Roberto GIUGLIANI (3), Daniel BICHET (4), Derralyn HUGHES (5), Hernan AMARTINO (6), William WILCOX (7), Christopher VIERECK (8), Jeff CASTELLI (8), Jay BARTH (8), Raphael SCHIFFMANN (9)

1. Génétique Médicale, APHP - Hôpitaux Universitaires Paris Ile de France Ouest, Garches, France
2. Centre de compétence des anomalies du développement et syndromes malformatifs, APHP - Hôpitaux Universitaires Paris Ile de France Ouest, Garches, France
3. Génétique Médicale, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, Brésil
4. Néphrologie, Université de Montréal, Montreal, Canada
5. Hématologie, Royal Free Hospital, Londres, Royaume Uni
6. Neuropédiatrie, Hospital Austral, Buenos Aires, Argentine
7. Génétique Médicale, Université Emory, Atlanta, Etats-Unis
8. Research and Development, Amicus Therapeutics, Cranbury, Etats-Unis
9. Medical Genetics, Baylor Research Institute, Dallas, Etats-Unis

Mots clefs : Maladie de Fabry, molécule chaperon, pharmacogénétique, migalastat

Résumé :

La maladie de Fabry est une maladie héréditaire du métabolisme, de transmission liée au chromosome X, due à un déficit en alpha-galactosidase A lysosomale. L'accumulation de glycosphingolipides Gb_3 (et son dérivé déacylé le lyso-Gb_3) conduit à une insuffisance rénale terminale, une cardiomyopathie hypertrophique avec arythmie, des symptômes gastro-intestinaux et une atteinte cérébro-vasculaire. Le migalastat, une molécule chaperon pharmacologique, stabilise certains variants de l'alpha-galactosidase, restaurant son adressage au lysosome et son activité catalytique.
Patients et Méthodes: La sécurité et l'efficacité d'une molécule chaperon pharmacologique fut évaluée dans un essai international multicentrique, randomisé en double aveugle contre placebo portant sur 50 patients avec mutation sensible (« *amenable* mutation ») dans un test *in vitro* en cellules HEK 293 développé selon les bonnes pratiques de laboratoire (GLP-HEK migalastat amenability assay). Les patients furent traités pendant 6 mois par 150 mg de migalastat per os un jour sur 2. Tous les patients furent ensuite traités en ouvert par migalastat pendant 18 mois. Parmi les 50 patients, 14 étaient des sujets de sexe masculins atteints de la forme classique de la maladie de Fabry avec atteinte multi-organique et activité enzymatique résiduelle de l'alpha-galactosidase < 3%.
Résultats: Le phénotype de la maladie de Fabry était plus sévère chez les patients masculins atteints de la forme classique (n = 14) que chez les autres patients (hommes atteints du variant tardif de la maladie et femmes, n = 34). La variation annuelle du débit de filtration glomérulaire estimé (DFG estimé par la formule CKD-EPI) fut limitée à -0,3 mL/min/1.73 m^2 par an (IC95% : –2.8, 2.3). La réduction de la masse ventriculaire gauche indexée (MVGi) fut de –16.7 g/m^2 (IC95%: –31.1, –2.4) pour une masse moyenne de 114±27.3 g/m^2, avec 7/14 patients présentant une hypertrophie ventriculaire gauche (HVG) à l'inclusion. La variation du taux plasmatique de lyso-Gb_3 fut de –36.8 (IC 95% : –69.9, –3.7) à 12 mois pour des valeurs de 99.8±35.3 nmol/L à l'inclusion. Le questionnaire GSRS (symptômes gastro-intestinaux rapportés par les patients) avait un score initial de 2.5±1.66 et une amélioration de –0.9 (IC95%: –2.1,0.4) à 24 mois.
Conclusion: Nos résultats démontrent pour la première fois le bénéfice clinique d'une molécule chaperon pharmacologique, le migalastat, chez des patients de sexe masculin atteints de la forme classique de la maladie de Fabry associée à des mutations sensibles de l'alpha-galactosidase, sur la fonction rénale, la masse ventriculaire gauche indexée, le taux plasmatique de lyso-Gb_3 et les symptômes digestifs. Le migalastat a été récemment approuvé dans l'Union européenne pour le traitement des patients atteints de maladie de Fabry avec mutations sensibles du gène GLA (Clinicaltrial.gov: NCT00925301 et NCT01458119).

CO112 : Défaut de palmitoylation du récepteur à la transferrine et ses conséquences physiopathologiques dans les Neurodégénérescences avec accumulation de fer dans le cerveau. L'utilisation de l'Artesunate comme nouvelle piste thérapeutique des NBIA ?

Auteurs :

Anthony DRECOURT (1, 2), Joël Babdor (3), Michael Dussiot (3), Nicolas Goudin (4), Meriem Garfa-Traoré (4), Florence Habarou (5), Floriane Petit (6), Christine Bole-Feysot (7), Patrick Nitschké (8), Chris Ottolenghi (5, 9), Metodi Metodiev (1), Valérie Serre (10), Isabelle Desguerre (11), Nathalie Boddaert (11, 12), Olivier Hermine (3, 13), Arnold MUNNICH (12, 11), Agnès ROTIG (14, 15)

1. Génétique des maladies mitochondriales , UMR1163, Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, Institut IMAGINE, PARIS, France
2. Faculté de medecine, Université Paris Descartes Paris V, PARIS, France
3. Laboratory of Excellence GR-Ex, UMR1163, Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, Institut IMAGINE, PARIS, France
4. Plateau technique de Cytométrie et d'Imagerie Cellulaires, Structure Fédérative de Recherche Necker, INSTITUT IMAGINE INSERM US 24-CNRS, UMS 3633, PARIS, France
5. Biochimie métabolomique et protéomique, Hôpital Necker-Enfants Malades, PARIS, France
6. Génétique des maladies mitochondriales , UMR1163, Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, Institut IMAGINE, paris, France
7. Plateforme de bioinformatique et de génomique, UMR1163, Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, Institut IMAGINE, PARIS, France
8. Plateforme de bioinformatique et de génomique, UMR1163, Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, Institut IMAGINE, paris, France
9. Biochimie métabolomique et protéomique, UMR1163, Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, Institut IMAGINE, PARIS, France
10. Institut Jacques Monod, UMR7592, Université Paris Diderot, PARIS, France
11. Departments of Pediatrics, Radiology and Genetics, Hôpital Necker-Enfants Malades, PARIS, France
12. Departments of Pediatrics, Radiology and Genetics, UMR1163, Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, Institut IMAGINE, PARIS, France
13. Departments of Hematology, Hôpital Necker-Enfants Malades, PARIS, France
14. Génétique des maladies mitochondriales , UMR1163, Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, Institut IMAGINE, Paris, France
15. Laboratory of Excellence GR-Ex, UMR1163, Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, Institut IMAGINE, Paris, France

Mots clefs : Neurodégénérescences, NBIA, Mitochondrie, Artesunate, Surcharge en fer, Recepteur à la transferrine, Palmitoylation, Régulation post-traductionnelle,

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 dans 10 gènes ont été associées aux NBIA. Dans la grande majorité des cas le lien entre ces gènes et l'accumulation de fer reste totalement inconnu.

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 de patients avec mutations de *PANK2*, *PLA2G6* et *C19orf12* ainsi que de deux autres patients pour lesquels un séquençage d'exome nous a permis d'identifier *REPS1* et *CRAT* comme des nouveaux gènes de NBIA. Nous avons observé dans tous ces fibroblastes une surcharge en fer, 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. D'autre part, nous avons montré une accumulation de TfR1 et un recyclage anormal de la transferrine (Tf) qui s'accumule autour du noyau.

La régulation de l'homéostasie du fer se fait au niveau post-transcriptionnel grâce aux Iron Regulatory Proteins (IRP), des senseurs du contenu cellulaire en fer. Cette régulation est la seule connue jusqu'à maintenant. Nous avons pu montrer que l'accumulation de TfR1 est dû à un défaut de palmitoylation et que la palmitoylation du TfR1 assure une régulation post-traductionnelle jusque-là inconnue. Enfin, l'artesunate, agent anti-malarien, restaure une palmitoylation normale du TfR1 et diminue le contenu en fer dans les fibroblastes NBIA ce qui suggère une piste thérapeutique importante pour le traitement des NBIA et d'autres neurodégénérescences associées à une accumulation de fer.

CO113 : Essai thérapeutique pilote non randomisé pour le traitement par Sirolimus de syndromes hypertrophiques reliés à PIK3CA – PROMISE

Auteurs :

Maxime Luu (1), Smail Hadj-Rabia (2), Alice Phan (3), Fanny Morice-Picard (4), Ludovic Martin (5), Didier Bessis (6), Christine Coubes (7), Romaric Loffroy (8), Carine Bonnin (1), Pierre Pottecher (8), Alexandra Delignette (9), Charlotte Bernigaud (10), Elodie Gautier (11), Christine Binquet (12), Christel Thauvin-Robinet (11, 13), Camille Fleck (14), Agnès Maurer (1), Jean-Baptiste Rivière (11, 15), Paul Kuentz (16), Kim Keppler-Noreuil (17), Leslie G. Biesecker (17), Robert Semple (18), Victoria Parker (19), Maud Carpentier (20), Marc Bardou (1), Laurence Faivre (11, 21), Pierre Vabres (10)

1. CIC 14 32 - module plurithématique, CHU Dijon, Dijon, France
2. Service de Dermatologie, CHU Paris - Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
3. Service de dermatologie, Centre hospitalier Lyon-Sud, Lyon, France
4. Unité de dermatologie pédiatrique, Service de Génétique Médicale, CHU Bordeaux, Bordeaux, France
5. Service de dermatologie, CHU Angers, Angers, France
6. Service de Dermatologie, CHU Montpellier, Montpellier, France
7. Département de génétique médicale, CHU Montpellier, Montpellier, France
8. Radiologie et Imagerie médicale diagnostique et thérapeutique, CHU Dijon, Dijon, France
9. Radiologie, Imagerie Médicale Dijon Tours Elithis, Dijon, France
10. Service de dermatologie, CHU Dijon, Dijon, France
11. FHU TRANSLAD, CHU Dijon, Dijon, France
12. CIC 1432, CHU Dijon, Dijon, France
13. UMR 1231 équipe GAD, Génétique des Anomalies du Développement, Université de Bourgogne Franche-Comté, Dijon, France
14. Vigilance des essais cliniques, CHU Dijon, Dijon, France
15. UMR Inserm 1231 GAD « Génétique des Anomalies du Développement », Université de Bourgogne Franche-Comté, Dijon, France
16. FHU TRANSLAD, CHU Besançon, Besançon, France
17. National Human Genome Research Institute, National Institutes of Health, Bethesda, Etats-Unis
18. National Severe Insulin Resistance Service, NHS, Cambridge, Royaume Uni
19. Metabolic Research Laboratories, University of Cambridge, Cambridge, Royaume Uni
20. DRCI, CHU Dijon, Dijon, France
21. Centre de référence Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs, CHU Dijon, Dijon, France

Mots clefs : PIK3CA, Sirolimus, Syndromes hypertrophiques

Résumé :

La voie de signalisation PI3K-AKT-mTOR régule la prolifération et la survie cellulaires. Des mutations activatrices en mosaïque de *PIK3CA*, à l'origine d'une hyperactivité de AKT-mTORC1, majorent la croissance des tissus atteints. Ceci se traduit cliniquement par une hypertrophie segmentaire des os et des parties molles, une hypertrophie adipeuse, des malformations vasculaires cutanées ou profondes, constituant le spectre PROS (*PIK3CA*-related overgrowth spectrum). Il regroupe l'hyperplasie fibro-adipeuse, le syndrome de Klippel-Trenaunay et le syndrome CLOVES. Jusqu'à présent, la chirurgie de réduction était la seule option thérapeutique. L'identification de mutations gain-de-fonction de *PI3KCA* a suggéré l'utilisation thérapeutique de molécules inhibitrices de la voie de signalisation PI3K-AKT telles que le Sirolimus, un inhibiteur allostérique de mTOR, dont le profil de sécurité à long terme à doses immunosuppressives a été établi dans le rejet de greffe.
Nous avons évalué l'efficacité et la tolérance du Sirolimus à faible dose sur la réduction de l'hypertrophie liée à *PIK3CA* dans un essai pilote de phase II, non randomisé, ouvert et à bras unique. Au total, 35 adultes et enfants de 4 à 40 ans ayant une hypertrophie segmentaire avec mutation *PIK3CA* en mosaïque ont été inclus dans 3 centres : Dijon (France), Cambridge (GB) et Bethesda (USA). Le volume et la composition tissulaire des sites atteints et indemnes ont été mesurés par IRM volumétrique et absorptiométrie biphotonique à rayons X (DXA), lors de l'inclusion (M0), après 6 mois d'observation sans traitement (M6), puis après 6 mois de traitement par Sirolimus (M12). Trente sujets ont reçu 6 mois de traitement, à des doses adaptées selon des taux sériques résiduels de 2 à 6 ng/mL. Nous avons observé une réduction significative de -7,0% ($p = 0,04$) du volume tissulaire moyen des sites atteints mais pas des sites indemnes (-2,8% $p = 0,48$) ($n = 23$). Certains patients ont constaté une réduction des douleurs et des saignements. Cependant, 28/35 (80%) d'entre eux ont présenté au moins un événement indésirable (EI) considéré comme lié au traitement, dont 37% étaient de grade 3 ou 4 (NCI-CTCAE). Ils ont entrainé la sortie de l'étude de 5 patients (14%).
Nous avons constaté une réduction minime de l'hypertrophie du PROS après 6 mois de Sirolimus. Même si la tolérance a été satisfaisante chez la plupart des patients, plusieurs ont présenté des effets indésirables notables (thrombose, saignement, fièvre) sans qu'on puisse a priori déterminer des facteurs de risque. L'évaluation individualisée du rapport bénéfice/risque avant traitement est donc difficile, mais le sirolimus peut constituer une option thérapeutique du PROS, qui justifierait d'être mieux évaluée à plus long terme. Toutefois le Taselisib, un inhibiteur spécifique de la sous-unité catalytique alpha de la PI3-kinase, représente une alternative thérapeutique en cours d'évaluation dans un nouvel essai récemment débuté chez des adultes.

CO114 : Correction ex-vivo du gène COL7A1 par CRISPR/Cas9 et recombinaison homologue pour les épidermolyses bulleuses dystrophiques récessives

Auteurs :

Araksya IZMIRYAN (1), Clarisse GANIER (1), Matteo BOVOLENTA (2, 3), Fulvio MAVILIO (4), Alain HOVNANIAN (5, 6)

1. Laboartoire de Maladies Génétiques Cutanées, Inserm UMR1163, Institut Imagine, Paris, France
2. INSERM UMR951, Généthon, Evry, France
3. Department of Life Sciences and Biotechnology, University of Ferrara, Ferrara, Italie
4. INSERM UMR951, Généthon, Paris, France
5. Inserm UMR1163, Inserm UMR1163, Imagine Institute, Paris, France
6. Département de Génétique, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France

Mots clefs : Epidermolyse bulleuse dystrophique récessive, COL7A1, CRISPR/Cas9, Recombinaison homologue, correction génique, xenogreffe

Résumé :

Les épidermolyses bulleuses dystrophiques (EBD) représentent un groupe de maladies génétiques cutanées rares et sévères, transmises de façon récessive (EBDR) ou dominante (EBDD), responsables de décollements bulleux de la peau et des muqueuses. Les EBDs sont dues à un grand nombre de mutations du gène *COL7A1* codant le collagène VII, le composant principal des fibres d'ancrage. Les formes récessives sont parmi les génodermatoses les plus graves de l'enfant et de l'adulte.
Les études récentes ont mis en évidence le potentiel thérapeutique de l'approche par correction génique au moyen de nucléases spécifiques de séquences telles que le système CRISPR/Cas9 (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats-associated Cas9). Ces nucléases peuvent induire des cassures spécifiques d'ADN double brin et stimuler de manière efficace la recombinaison homologue (RH) en présence d'une matrice d'échange.
Afin d'étudier le potentiel thérapeutique de la correction des mutations du gène *COL7A1* basé sur le système CRISPR/Cas9 et la RH, nous avons choisi cinq ARN guides (ARNg) ciblant les séquences adjacentes d'une mutation nulle (c.189delG; p.Lys6Trp*40), située dans l'exon 2. Quatre d'entre eux ont montré une expression efficace, une faible toxicité et jusqu'à 35% d'activité de clivage dans les cellules HEK293. Ces ARNg ont été clonés dans un vecteur lentiviral bicistronique codant aussi la nucléase Cas9 et délivrés à l'aide d'un lentivirus non intégratifs (IDLVs). Deux de ces quatre ARNg ont montré une spécificité et une activité significative de clivage après transduction des fibroblastes et les kératinocytes primaires (15 et 9% respectivement).
Nous avons ensuite co-transduits les fibroblastes et les kératinocytes primaires du patient EBDR, homozygote pour cette mutation à l'aide d'IDLVs codant la nucléase Cas9 avec l'ARNg le plus efficace et une matrice d'échange correspondant. Nous avons détecté jusqu'à 12% de correction génique dans les cellules traitées par la technique de Droplet PCR allèle spécifique, RT-PCR quantitative et séquençage Sanger. L'étude par immunofluorescence des cellules transduites montre une ré-expression du collagène VII.
Puis nous avons étudié la fonctionnalité des fibroblastes et des kératinocytes primaires EBDR corrigées dans modèle *ex-vivo* de xénogreffe de peau reconstruite transplantée sur des souris immuno-déficientes. Nous démontrons par immunohistofluorescence cutanée la réexpression de collagène VII le long de la jonction dermo-épidermique des peaux reconstruites greffées.
Notre étude a permis de montrer la faisabilité et l'efficacité de l'édition génique des mutations de *COL7A1* par CRISPR/Cas9 et RH et permet d'envisager le développement de modèles de peau génétiquement corrigée adaptés à une application clinique.

Résumé Assises 2018 _IZMIRYAN.docx

CO115 : La dysfonction de la voie du glutamate révélée par une approche multi-OMICS dans le syndrome mitochondrial MELAS est améliorée par le régime cétogène

Auteurs :

Sophie Belal (1), David Goudenège (2, 1), Tamas Aranyi (3), Daniel Stockholm (4), Juan Manuel Chao de la Barca (1), Valérie Seegers (5), Guillaume Geffroy (1), Céline Bris (2, 1), Valérie Desquiret - Dumas (2, 1), Naïg Gueguen (2), Franck Letournel (6), Magalie Barth (2), Dominique Bonneau (7, 1), Pascal Reynier (2, 1), Guy Lenaers (1), Arnaud Chevrollier (1), Vincent Procaccio (2, 1)

1. MITOVASC – Equipe MITOLAB UMR CNRS 6214 - INSERM 1083, Université d'Angers, Angers, France
2. Département de biochimie et génétique, CHU d'Angers, Angers, France
3. Research center for natural science, Hungarian Academy of science, Budapest, Hongrie
4. UMRS 951, Ecole pratique des hautes études - Sorbonne, Paris, France
5. Département de biométrie, Institut de Cancérologie de l'Ouest, CRCINA – Unité INSERM1232, Institut de cancérologie de l'Ouest, Angers, France
6. Département de pathologie cellulaire et tissulaire, CHU d'Angers, Angers, France
7. Servide de génétique clinique et cytogénétique, CHU d'Angers, Angers, France

Mots clefs : Mitochondrie, Maladies mitochondriales, ADN mitochondrial, MELAS, Modèle neuronal, glutamate, régime cétogène

Résumé :

Les maladies mitochondriales sont des maladies métaboliques liées à un déficit de la chaîne respiratoire mitochondriale. La mitochondrie possède son propre ADN mitochondrial (ADNmt) de transmission maternelle. La coexistence de plusieurs ADNmt différents au sein d'une même cellule, définie le phénomène d'hétéroplasmie mitochondriale. L'expression phénotypique au niveau cellulaire et la sévérité de la pathologie vont dépendre en grande partie des proportions d'ADN normal et muté.
Affection de l'enfance, le syndrome neurologique de MELAS (Myopathy Encephalopathy Lactic Acidosis and Stoke-like episodes) se traduit par une encéphalopathie avec acidose lactique et des pseudo-accidents vasculaires cérébraux, est associé à une mutation commune hétéroplasmique en position 3243A>G au niveau de l'ARNt$^{leu(UUR)}$ de l'ADNmt. Par ailleurs, les traitements des pathologies mitochondriales font cruellement défaut.
L'impact de l'hétéroplasmie variable de l'ADNmt sur la physiopathologie neuronale a pu ainsi être analysé au niveau cellulaire et mitochondrial. Des modèles cellulaires cybrides neuronaux et lignées cellulaires fibroblastiques présentant des taux d'hétéroplasmies différents pour la mutation 3243A>G ont été utilisés.
Par des approches OMICS combinées associant métabolomique ciblée, transcriptomique et méthylomique, nous avons pu identifier une signature spécifique et des biomarqueurs propres au syndrome MELAS en particulier affectant les voies impactant le métabolisme du glutamate. Ce glutamate est important dans les processus de neurotransmission mais également pour le métabolisme énergétique mitochondrial. Ces résultats ont été confortés par l'analyse post mortem de cerveaux de patients MELAS et contrôles et aussi de plasmas de patients MELAS confortant le rôle potentiel du glutamate comme biomarqueur de la maladie.
Dans un 2e temps, nous avons étudié les effets du régime cétogène qui associe outre un apport réduit en carbohydrates, l'ajout de corps cétoniques. Ce traitement couramment utilisé pour le traitement des épilepsies pharmaco-résistantes, a démontré une amélioration nette de la fonction mitochondriale des modèles cellulaires et une réduction significative du taux de glutamate corrélée au taux de mutant des modèles cellulaires MELAS. La mise en évidence in vitro de l'efficacité du régime cétogène permet ainsi d'apporter un rationnel scientifique sur l'intérêt thérapeutique de ce régime et de mieux comprendre les mécanismes biochimiques et 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. Cette approche multi-OMICs permet également de mieux comprendre les mécanismes physiopathologiques à l'origine de ce syndrome MELAS et d'identifier des biomarqueurs potentiels pour la mise en place et la réalisation de futurs essais cliniques.

CO116 : Une mutation du gène de la dUTPase (DUT) est responsable d'un nouveau syndrome monogénique caractérisé par un diabète associé à une aplasie médullaire

Auteurs :

Reinaldo Sousa Dos Santos (1), Anne Philippi (2), Mathilde Daures (2), Sophie Romero (2), Lorella Marselli (3), Piero Marchetti (3), Valérie Senée (2), Delphine Bacq (4), Céline Besse (4), Baz Baz (5), Laura Marroqui (1), Sarah Ivanoff (6), Julien Masliah-Planchon (6), Marc Nicolino (7), Jean Soulier (8), Gérard Socié (9), Decio L Eizirik (1), Jean-François Gautier (5), Cécile Julier (2)

1. ULB Center for Diabetes Research, Medical Faculty, Université Libre de Bruxelles, Bruxelles, Belgique
2. INSERM UMR-S958, Faculté de Médecine Paris Diderot, University Paris 7 Denis-Diderot, Sorbonne Paris Cité, Paris, France
3. Department of Clinical and Experimental Medicine, Islet Cell Laboratory, University of Pisa, Pise, Italie
4. Centre National de Génotypage, Commissariat à l'Energie Atomique, Institut de Génomique, Evry, France
5. Department of Diabetes and Endocrinology, AP-HP, Hôpital Lariboisière, University Paris 7 Denis-Diderot, Sorbonne Paris Cité, Paris, France
6. Hematology laboratory, the Aplastic anemia Reference Centre, INSERM U944, AP-HP, Saint-Louis Hospital, INSERM U944, University Paris 7 Denis-Diderot, Sorbonne Paris Cité, Paris, France
7. Division of Pediatric Endocrinology, Hôpital Femme-Mère-Enfant, Hospices Civils de Lyon, Lyon1 University, Lyon, France
8. Department of Hematology, Immunology and Oncology, Hematology Transplantation, AP-HP, Saint-Louis Hospital, INSERM U944, University Paris 7 Denis-Diderot, Sorbonne Paris Cité, Paris, France
9. Department of Hematology, Immunology and Oncology, Hematology Transplantation, AP-HP, Hôpital Saint-Louis, Paris, France

Mots clefs : diabète, maladie monogénique, maladie rare, consanguinité, séquençage d'exome, syndrome génétique, complications des chémothérapies

Résumé :

Alors que les diabètes les plus fréquents, incluant les diabètes de type 1 (DT1) et de type 2 (DT2) sont essentiellement d'origine multifactorielle, certains cas de diabète ont un déterminisme monogénique, résultant de mutations de gènes essentiels pour le développement, la survie ou la fonction des cellules b pancréatiques productrices d'insuline. L'étude génétique de familles particulières sélectionnées selon des critères cliniques et/ou génétiques permet d'identifier ces gènes.
Nous décrivons un nouveau syndrome, caractérisé par un diabète précoce, associé à une aplasie médullaire qui touche principalement la lignée érythroïde. Nous avons réalisé le séquençage d'exome d'un patient d'origine française issu d'une famille consanguine avec deux enfants atteints dont les parents étaient cousins au 2è degré. Chez ce patient, nous avons identifié une seule mutation homozygote codante, localisée dans le gène de la dUTPase (*DUT*) et affectant à la fois l'isoforme mitochondriale (DUT-M p.Y142C) et l'isoforme nucléaire (DUT-N p.Y54C). Nous avons retrouvé la même mutation homozygote chez un patient d'origine égyptienne présentant un diabète juvénile et une aplasie médullaire, issu d'une famille consanguine avec 2 enfants atteints du même syndrome, alors qu'aucun des > 120000 individus de la Genome Aggregation Database (gnomAD) n'était homozygote pour cette mutation. La fréquence de ce variant est de 0.000050 sur l'ensemble de gnomAD, présent uniquement dans la sous-population européenne (fréquence de p=0.00011). La probabilité de réplication dans le 2è patient est de pxF=0.00011x1/16 (F=coefficient de consanguinité), soit 6.9×10^{-6}, ce qui confirme le rôle de cette mutation *DUT* à l'origine de ce syndrome. Nous avons montré que ces deux patients, bien qu'originaires de populations différentes, ce que nous avons confirmé par l'analyse en composantes principales de leur génome (SNPs à haute densité), partagent un segment de 1.9 Mb autour de la mutation *DUT*, indiquant un effet fondateur ancestral commun aux deux patients. DUT est une enzyme essentielle pour le maintien de l'intégrité de l'ADN, en permettant de prévenir l'incorporation erronée d'uracile dans l'ADN, qui est toxique pour l'ADN et qui entraine la mort cellulaire. Nous avons montré que l'inhibition de *DUT* dans les cellules b pancréatiques humaines ou de rat entrainent l'apoptose par la voie de mort cellulaire intrinsèque. Notre découverte montre l'importance de la régulation fine du métabolisme de l'ADN pour le maintien de l'intégrité des cellules b pancréatiques. Ces résultats incitent également à surveiller le métabolisme des patients traités par des médicaments qui affectent l'équilibre du dUTP, par exemple dans le cas de certains cancers, et tout particulièrement lors des essais thérapeutiques actuellement en cours pour évaluer des inhibiteurs de la dUTPase.

P002 : Le polymorphisme C677T de la MTHFR et schizophrénie.

Auteurs :

sabah Hanachi (1), Karima Sifi (1), fatima zohra Madoui (2), khalida Boudaoud (3), salima Zekri (4), Karima Benmebarek (4), 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. hopital psychiatrique djebel wahch , hopital psychiatrique djebel wahch , Constantine, Algérie
3. Sevice d'endocrinologie CHU Constantine., faculté de medecine ,université constantine 3, Constantine, Algérie
4. laboratoire de biochimie CHU Costantine, laboratoire de biologie et génétique moleculaire, Constantine, Algérie

Mots clefs : polymorphisme C677T de la MTHFR, schizophrénie, homocystéine, folates, vit B12.

Résumé :

Introduction
La schizophrénie est une maladie cérébrale chronique qui touche environ 1% de la population mondiale. Les progrès de la biologie moléculaire ont permis progressivement d'identifier l'interaction entre les facteurs bio-environnementaux. Ainsi, de nombreuses études ont montré que la schizophrénie, comme toutes les maladies psychiatriques, est notamment due aux effets de plusieurs gènes, chacun jouant un rôle relativement faible, et interagissant avec ces facteurs, Parmi ces gènes « le gène de la MTHFR ».
Objectifs
Nous avons voulu par ce travail, rechercher une éventuelle relation entre le polymorphisme C677T du gène de la MTHFR et la schizophrénie dans une population de l'Est algérien.
Patients et méthodes
Nous avons recruté 56 sujets schizophrènes et 58 témoins présumés sains. Pour chaque sujet nous avons collecté des données cliniques par le biais d'un interrogatoire et de la consultation du dossier médical; et réalisé des prélèvements sanguins pour le dosage des paramètres biologiques (homocystéine, Vit B12 et folates) et pour une étude génétique du polymorphisme C677T de la MTHFR.
Résultats
Nos résultats montrent une association positive entre le sexe masculin (82.14%), le chômage (74.47% chez les malades versus 20.75% chez les témoins), le tabac à chiquer (48.78% vs 7.14%) le tabagisme (69.77% vs 46.55%), la prise du cannabis (39.95% vs 00%), la morbidité familiale (56.86% vs7.41%) et le taux plasmatiques d'acide folique. Cependant les taux de Vitamine B12 et d' homocystéine ne montrent aucune corrélation avec la schizophrénie.
Notre étude retrouve également une fréquence significativement élevée du génotype homozygote muté TT du gène de la MTHFR chez les malades (57.14 % vs 5.36 %). Ce polymorphisme est fortement corrélé avec la schizophrénie avec des Odds ratios des genotypes TT vs CC=30.87 IC (7.21-153.23) $p < 0.00001$ et TT+CT vs CC=9.16IC(3.47-24.78) $p < 0.00001$.
Conclusion
Cette étude nous a permis de déterminer la prévalence de certains facteurs contribuant au développement et à l'évolution de la schizophrénie mais surtout de mettre en évidence la corrélation fortement positive entre le polymorphisme C677T du gène de la MTHFR et la schizophrénie dans notre population.

abstract assise de genetique 2017.docx

P003 : Haploinsufficiency for the autism-associated ARID1B gene causes a specific developmental pattern from corpus callosum anomalies to visuo-spatial deficits

Auteurs :

Caroline DEMILY (1), Charlyne DUWIME (2), Alice POISSON (1), Cherhazad HEMINOU (3), Nathalie BODDAERT (4), Charlotte DENIER (5), Matthieu ROBERT (5), Marie-Noëlle BABINET (1), Nicolas FRANCK (6), Claude BESMOND (7), Giulia BARCIA (7), Massimiliano ROSSI (8), Laurence VAIVRE-DOURET (3), Arnold MUNNICH (7)

1. Centre de Référence GénoPsy, Centre hospitalier le Vinatier, Lyon, France
2. Association l'Elan Retrouvé et Institut Imagine, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
3. UMR 1178 Inserm, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
4. Service de radiologie pédiatrique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
5. Service d'ophtalmologie, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
6. Centre Ressource de Réhabilitation, Centre hospitalier le Vinatier, Lyon, France
7. Département de Génétique - Institut Imagine, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
8. Service de Génétique Clinique, Hospices Civils de Lyon-Groupement Hospitalier Est, Lyon, France

Mots clefs : corpus callosum, ARID1B, genotype phenotype correlations, visuo-spatial area, social cognition

Résumé :

ARID1B mutations is a frequent cause of intellectual disability (ID, 0,5-1%), with various degrees of autism spectrum Disorder (ASD) and agenesis of the corpus callosum (ACC, 10%)[1]..
On the other hand the neuropsychological consequences of ACCC reportedly include impairment of visuo-spatial and social cognition. Many atypical findings in ACC overlap with those observed in ASD. Patients with *ARID1B* mutations provide therefore an unique opportunity to investigate the role of CC in visual and social cognition. Recently, heterozygous *ARID1B* mutant mice showed social behavior impairment, altered vocalization, motor abnormalities, anxiety-like behavior and neuroanatomical anomalies including ACC[4]. Despite an abundant literature, little is known regarding the cognitive and behavioral consequences of *ARID1B* mutations in humans and no link has been made between CC anomalies and cognitive dysfunctions.
We have investigated the visuo-spatial perceptions, social cognition and psychiatric phenotype in 8 patients with *ARID1B* mutations. A paramedian sagittal section of the brain MRI was selected, and CC was measured in the following four regions: Anteroposterior length (LC), Genu width (WG), Trunk width (WT) and Splenium width (WS).
Spearman's rank order coefficients were used to explore correlations between visuo-spatial and social cognitive variables and dimensions of the CC.
Behavioral anomalies observed in all cases, included social withdrawal, hyperactivity with attention deficit and anxiety. Three patients fulfilled ASD criteria. A significant correlation between CC size (LC and GW) and visual cognition was observed. Interestingly, CC anomalies may change in the course of the disease, with progressive enlargement of retro-cerebellar cysts associated with ACC or thick CC.
Here we show that CC anomalies caused by *ARID1B* mutations are progressive and predictive of the cognitive phenotype including visuo-spatial anomalies.

1 - Mignot C et al. Brain 2016 ; In Press
2 - Santen et al. Am J Med Genet C Semin Med Genet 2014 ; 166C : 276-289.
3 - Lombardo et al. Mol Autism 2012 ; 21 : 3 DOI: 10.1186.
4 - Celen et al. Elife 2017 ; 11 : 6 DOI: 10.7554.

P004 : Marqueurs neurocognitifs des troubles psychotiques dans la microdélétion 22q11.2 : une étude comportementale et électrophysiologique chez des jumeaux homozygotes

Auteurs :

Emilie FAVRE (1), Arnaud LELEU (2), Caroline DEMILY (1, 3)

1. GénoPsy, CH Le Vinatier, Bron, France
2. CSGA UMR 626 CNRS & UMP 1324 INRA, Université de Bourgogne Franche-Comté, Dijon, France
3. EDR-Psy UMR 5229 CNRS, Université Lyon 1, Lyon, France

Mots clefs : microdélétion 22q11.2, trouble psychotique, cognition sociale, expression faciale émotionnelle, troubles visuo-spatiaux, élecroencéphalographie

Résumé :

Introduction : La microdélétion 22q11.2 représente la cause génétique de schizophrénie la plus fréquente. Réciproquement, les troubles psychotiques affectent près de 50% des patients porteurs de cette microdélétion. Leur émergence est corrélée aux troubles de la reconnaissance des expressions faciales émotionnelles qui pourraient être eux-mêmes sous tendus par des troubles de la cognition visuelle (Debbané et al. 2006 ; Leleu et al. 2016). Afin de tester cette hypothèse en s'affranchissant des facteurs de régulation autre sur le génome, nous comparons au plan comportemental et électrophysiologique deux jumeaux monozygotes discordants pour les troubles psychotiques.
Méthode : Les deux jumeaux ont réalisé une batterie complète de tests neuropsychologiques permettant de déterminer leur profil cognitif. Ensuite, au cours d'un enregistrement électroencéphalographique, ils ont visionné des visages expressifs d'intensité variable présentés à fréquence constante parmi des visages neutres. La mesure de potentiels évoqués visuels stationnaires a permis de quantifier leur capacité à détecter un changement d'expression faciale émotionnelle en fonction de l'intensité.
Résultats : le profil neurocognitif des deux patients varie sur deux points. Chez le jumeau qui présente des troubles psychotiques, les troubles visuo-spatiaux sont plus étendus. Des anomalies comportementales et électrophysiologiques sont également retrouvées témoignant de difficultés pour détecter et catégoriser des expressions faciales émotionnelles d'intensité variable.
Conclusion : Les résultats obtenus étayent donc l'hypothèse d'un lien entre dysfonctionnement de la cognition visuelle, perturbation de la perception des expressions faciales, et survenue de symptômes psychotiques dans la microdélétion 22q11.2. L'origine de l'hétérogénéité du phénotype psychiatrique reste à préciser.

P005 : Les variations tronquantes du gène IRF2BPL sont responsables d'un nouveau syndrome neurodéveloppemental avec régression.

Auteurs :

Frédéric Tran (1, 2), Antonio Vitobello (2, 3), Laurence Duplomb (2), Kristin Lindstrom (4), Isabelle Marey (5), Rebecca Spillmann (6), Marie-Jose Van Den Boogaard (7), Renske Oegema (7), Boris Keren (8), Nicholas Stong (9), Alice Masurel (1), Caroline Nava (10), Thibaud Jouan (2), Floor Jansen (11), Yannis Duffourd (1), Anais Begemann (12), Markus Zweier (12), Anita Rauch (12), Christophe Philippe (13, 3), Laurence Faivre (1, 2), Jill Anne Mokry (14), Mary Kay Koenig (15), Elena Infante (16), Damara Ortiz (17), Koen Van Gassen (7), Kacie Riley (6), Jenniffer Friedmann (18), Loren Pena (19), Christel Thauvin (1, 2)

1. Service de Génétique des Anomalies du Développement, CHU Dijon, Dijon, France
2. INSERM UMR1231, CHU Dijon, Dijon, France
3. UF Innovation en diagnostic génomique des maladies rares, Laboratoire de Cytogénétique et Génétique Moléculaire, CHU Dijon, Dijon, France
4. Division of Genetics and Metabolism, Phoenix Children's Hospital, Phoenix, Etats-Unis
5. Service de génétique médicale, hôpital Necker-Enfants Malades, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
6. Department of Pediatrics/Division of Medical Genetics, Duke University Medical Center, Durham, Etats-Unis
7. Department of Genetics, University Medical Center, Utrecht, Pays-Bas
8. Département de Génomique du développement, CHU Pitié-Salepêtrière, Paris, France
9. Columbia University, Institute for Genomic Medicine, New York, Etats-Unis
10. Service de Neurogénétique Moléculaire et Cellulaire, CHU Pitié-Salepêtrière, Paris, France
11. Department of Pediatrics Neurology, University Medical Center, Utrecht, Pays-Bas
12. Institute of Medical Genetics, University of Zurich, Zurich, Suisse
13. Laboratoire de Cytogénétique et Génétique Moléculaire, CHU Dijon, Dijon, France
14. Undiagnosed Diseases Network, Baylor College of Medicine, Houston, Etats-Unis
15. Department of Pediatrics, Division of Child and Adolescent Neurology, McGovern Medical School, Houston, France
16. Department of Medical Genetics, Children's Hospital of Pittsburgh, Pittsburgh, Etats-Unis
17. Department of Genetics, Children's Hospital of Pittsburgh, Pittsburgh, Etats-Unis
18. Department of Neurosciences and Pediatrics UCSD, Rady Children's Hospital , San Diego, Etats-Unis
19. Division of Medical Genetics, Duke University Medical Center, Durham, Etats-Unis

Mots clefs : Syndrome neurodéveloppmental, régression, séquençage d'exome, IRF2BPL.

Résumé :

Le retard de développement (RD) et la déficience intellectuelle (DI) sont des troubles fréquents, affectant environ 3% de la population générale, divisés en formes isolées ou syndromiques (associés à des signes cliniques supplémentaires). La régression neurologique, définie par la perte de compétences acquises antérieurement, peut survenir chez des patients présentant un développement normal, tels que dans les erreurs innées du métabolisme, mais également aggraver des patients atteints de RD/DI comme dans le syndrome de Rett. Les RD/DI syndromiques présentent ainsi une large hétérogénéité clinique et génétique avec approximativement plus de 800 gènes causaux décrits. Le déploiement du séquençage à haut débit d'exome (WES) au cours des dernières années s'est avéré un outil puissant puisqu'il a conduit à identifier de nombreux nouveaux gènes responsables de RD/DI grâce notamment au partage de données. Cependant, environ 60% d'individus restent sans explication moléculaire après un WES diagnostique.
Grâce à la combinaison du WES et d'un partage de données international, nous rapportons onze individus avec des variations tronquantes hétérozygotes sporadiques du gène *IRFP2L* (Interferon Regulatory Factor 2 Binding Protein-Like). Tous présentaient un RD/DI et une régression neurologique (âge moyen d'apparition à 3.8 ans), associés à une épilepsie clinique chez plus de la moitié des individus avec des anomalies à l'électroencéphalogramme (9/11) indépendamment des crises. Ils présentaient également une hypotonie axiale (8/11), une ataxie (6/11) et une dystonie (4/11). Trois avaient des anomalies à l'IRM cérébrale et/ou à la biopsie musculaire. Les analyses d'expression transcriptionnelle et protéique montraient une diminution de moitié de la quantité de protéine sauvage, associée à une augmentation de la transcription d'*IRF2BPL.*
IRF2BPL code pour un modulateur transcriptionnel nucléaire de type doigt de zinc avec une activité prédite d'ubiquitine ligase grâce à un domaine RING-finger localisé en C-terminal. IRF2BPL possède également une région poly-glutamine en N-terminal. IRF2BPL semble être très intolérant aux variations pertes de fonction (pLI = 0,97) et l'identification de 11 cas porteurs de variations tronquantes *de novo* dans le gène *IRF2BPL* ne peut pas être due au hasard ($p < 0,05$). IRF2BPL a précédemment été identifiée comme régulateur transcriptionnel des réseaux neuronaux impliqués dans l'axe hormonal reproducteur féminin des rongeurs et primates supérieurs. Cependant la fonction en pathologie humaine est actuellement inconnue. Des études fonctionnelles supplémentaires sont en cours pour mieux caractériser l'implication d'*IRF2BPL* dans ce syndrome neurodéveloppemental.
Le phénotype neurodéveloppemental semblable dans une cohorte de 11 individus porteurs d'une variation tronquante sporadique dans le même gène *IRF2BPL* permet de conclure à l'implication de cette protéine dans un nouveau trouble neurodéveloppemental avec régression.

P006 : A propos d'une nouvelle mutation familiale dans le gène NFIA: confirmation et expansion du phénotype.

Auteurs :

Chloé Quélin (1), Sylvie Odent (1), Laurent Pasquier (2), Florence Démurger (1), Mélanie Fradin (1), Lorraine Maheut (3), Wilfrid Carré (4, 5), Mathilde Ferry (6), Maia Proisy (7), Servane Le Lez Soquet (7), Christèle Dubourg (4, 5)

1. Génétique Clinique, CHU Hôpital Sud, Rennes, France
2. Génétique Clinique, CHU Hôpital sud, Rennes, France
3. Service de Gynécologie-Obstétrique, Clinique La Sagesse, Rennes, France
4. Laboratoire de Génétique moléculaire et Génomique, CHU Pontchaillou, Rennes, France
5. CNRS UMR 6290 (IGDR), , Université de Rennes 1, Rennes, France
6. Imagerie médicale, Rive Gauche, Rennes, France
7. Département de Radiologie et d'Imagerie Médicale, CHU Hôpital Sud, Rennes, France

Mots clefs : macrocrânie, ventriculomégalie, NFIA, exome

Résumé :

Le gène *NFIA* appartient à une famille de gènes (*NFI*) codant pour des facteurs de transcription. Les anomalies du gène *NFIA* ont à ce jour été rapportées chez une dizaine de patients dans la littérature, essentiellement par délétions 1p31-p32 emportant notamment *NFIA* ou par translocations interrompant *NFIA*. En 2014, Rao *et al.* ont ensuite identifié un patient avec délétion *de novo* hétérozygote intragénique de *NFIA*. Enfin deux patients avec mutations *de novo* hétérozygotes dans *NFIA* ont été rapportés indépendamment par Negishi *et al.* et Bayat *et al.* Le tableau phénotypique de ces patients se caractérise essentiellement par l'association d'une macrocéphalie avec ventriculomégalie voire hydrocéphalie, d'anomalies du corps calleux, d'un retard modéré de développement psychomoteur et d'anomalies des voies urinaires.
Nous rapportons une famille avec père et fils porteurs d'une nouvelle mutation ponctuelle hétérozygote dans le gène *NFIA*. Le père présente l'association d'une macrocrânie avec probable hydrocéphalie et épanchements sous-duraux bilatéraux (avec à l'IRM un défaut d'operculisation des vallées sylviennes et un corps calleux un peu court), de difficultés scolaires sans nette déficience intellectuelle, d'une fente palatine opérée et d'un méga-uretère primitif droit d'évolution favorable. Au cours de la première grossesse de sa conjointe, des carrefours ventriculaires limites ont été notés chez le fœtus dès 22 SA avec à l'IRM cérébrale foetale une dilatation ventriculaire symétrique avec mauvaise fermeture antérieure des vallées sylviennes. L'enfant est né à terme avec une macrocrânie, une luette bifide et une syndactylie cutanée entre les 4ème et 5ème orteils du pied gauche. Son évolution a été marquée par une légère hypotonie axiale initiale, quelques difficultés sur le plan moteur sans nette difficultés d'apprentissage à l'âge de 5 ans et une scaphocéphalie. Son IRM montre une dilatation tri-ventriculaire, un corps calleux fin, deux hétérotopies péri-ventriculaires et un aspect anormal des vallées sylviennes. Son échographie rénale était normale. Sur le plan génétique, le caryotype était normal chez le père, ainsi que l'ACPA. Une analyse de type « exome médical » (Focused Exome Agilent) a permis d'identifier une nouvelle mutation frameshift à l'état hétérozygote (c.1040del, (p.gly347Glufs*22)) dans le gène *NFIA*, confirmée en Sanger, chez le père et le fils.
La description de ces nouveaux patients avec mutation dans le gène *NFIA* confirme le spectre phénotypique précédemment décrit et montre que certains signes cliniques peuvent s'observer dès la période anténatale. Cela confirme de plus l'existence de malformations moins fréquentes telles que les craniosténoses, les anomalies de gyration et/ou hétérotopies neuronales ou encore les anomalies des extrémités. Enfin, cette nouvelle famille permet d'inclure les anomalies du palais (fente palatine/luette bifide) dans le spectre phénotypique des mutations *NFIA*.

P007 : Criblage des gènes de la dynamique mitochondriale dans une cohorte de 600 patients atteints de neuropathies optiques héréditaires

Auteurs :

majida charif (1), Patrizia Amati-Bonneau (2), Céline Bris (3), David Goudenège (4), Vincent Procaccio (4), Dominique Bonneau (3), Pascal Reynier (3), guy lenaers (5)

1. Equipe MitoLab, UMR CNRS 6015 - INSERM U1083, Institut MitoVasc, Université et Hôpital Angers, angers, France
2. , CHU Angers, Département de Biochimie et Génétique, angers, France
3. , Centre Hospitalier Universitaire, Département de Biochimie et Génétique, angers, France
4. Département de Biochimie et Génétique, Centre Hospitalier Universitaire d'Angers, angers, France
5. Equipe MitoLab, UMR CNRS 6015 - INSERM U1083, Institut MitoVasc, Université et Hôpital Angers, Angers, France

Mots clefs : Nerf optique, mitochondries, dynamique mitochondriale, neuropathies

Résumé :

Les Neuropathies Optiques Héréditaires (NOH) sont des maladies rares cécitantes affectant spécifiquement les cellules ganglionnaires de la rétine, dont les axones forment le nerf optique et transduisent l'information visuelle de la rétine au cerveau. Selon le mode de transmission, on distingue l'Atrophie Optique Dominante (AOD) ou maladie de Kjer, causée principalement par des mutations dans le gène *OPA1* et plus rarement dans les gènes *OPA3*, *SPG7* et *AFG3L2*. Les formes récessives (AOR) sont moins fréquentes et associées à des mutations dans les gènes *TMEM126A*, *ACO2* et *RTN4IP1*. Enfin, il existe des formes à transmission maternelle, dans le cas de la NOH de Leber, associées à des variants pathogènes du génome mitochondrial.
Les gènes d'AOD codent des protéines mitochondriales impliquées directement (*OPA1, MFN2*) ou indirectement (*OPA3*, *AFG3L2* et *SPG7*) dans la dynamique mitochondriale, alors que les gènes d'AOR codent pour des protéines mitochondriales non impliquées dans la dynamique mitochondriale.
Le séquençage d'un panel de 23 gènes nucléaires dont des gènes de la dynamique mitochondriale a été réalisé dans une cohorte de 600 patients présentant une AOD. Nous avons identifié des variants pathogènes hétérozygotes dans les gènes *OPA1* (42 familles), *MFN2* (10 familles), *AFG3L2* (7 familles) et *SPG7* (3 familles). En complément, le séquençage d'exome, nous a permis d'identifier deux nouveaux variants pathogènes dans le gène *DNM1L* dans trois grandes familles présentant une AOD. Les fibroblastes de ces patients ont montré un réseau mitochondrial hyper-filamenté, sans aucune atteinte des peroxysomes, ni de la respiration mitochondriale et de l'activité enzymatique des complexes de la chaine respiratoire. Paradoxalement, *DNM1L* code une protéine dont la fonction de fission mitochondriale est diamétralement opposée à celle d'OPA1. Ces résultats démontrent le rôle particulièrement critique de l'équilibre fusion-fission pour la physiologie des cellules ganglionnaires de la rétine.

P008 : Intérêt d'un parcours de soins personnalisé dans le diagnostic étiologique des troubles du spectre autistique

Auteurs :

JEROME JEANNETTE (1, 2), ISABELLE DESGUERRE (3), laurence robel (4), arnold munnich (5, 6), stanislas lyonnet (1, 6), valerie cormier daire (1, 6), MARLENE RIO (1, 6)

1. GENETIQUE MEDICALE, HOPITAL NECKER, APHP, PARIS, France
2. RECHERCHE CLINIQUE, INSTITUT IMAGINE, PARIS, France
3. neuropediatrie, HOPITAL NECKER, APHP, PARIS, France
4. pedopsychiatrie, HOPITAL NECKER, APHP, paris, France
5. GENETIQUE MEDICALE, HOPITAL NECKER, APHP, paris, France
6. INSERM UMR 1163, INSTITUT IMAGINE, Université Paris Descartes - Sorbonne Paris Cité, PARIS, France

Mots clefs : autisme, parcours de soins, diagnostic

Résumé :

Les troubles du spectre autistique sont un trouble du développement apparaissant dans l'enfance et se manifestant par des difficultés d'interaction sociale, de communication, et de comportement.
Depuis quelques années, ils constituent un motif croissant de consultation en neuropédiatrie et en génétique qui tentent de répondre à la question du diagnostic étiologique. Cet afflux de patients n'est probablement pas sans lien avec les recommandations publiées par la HAS en 2010 qui préconise un examen neuropédiatrique complet et une consultation auprès d'un généticien avec réalisation d'un caryotype et recherche d'un syndrome de l'X fragile pour tout enfant autiste.
La prise en charge des patients avec trouble du spectre autistique est délicate : Les difficultés de compréhension et d'expression, les particularités sensorielles de ces patients nécessitent une prise en charge adaptée et personnalisée.
Ainsi, l'institut Imagine et l'hôpital Necker ont créé un parcours de soins spécifique pour ces patients, avec consultation unique regroupant neuropédiatre et généticien, mais aussi un infirmier coordinateur. Nous présentons ce parcours de soins mis en place en 2016 et qui a pu être proposé à 167 patients. Ce parcours de soins se déroule en ambulatoire (consultation puis prélèvement) et non sur une hospitalisation, inadaptée aux difficultés comportementales des enfants. Une attention particulière a été portée à la réalisation des prélèvements nécessaires au diagnostic étiologique..
Pour effectuer ce prélèvement, source d'angoisse non seulement pour les enfants mais également pour leurs parents, il a fallu s'adapter.
Il apparait en effet que le temps est un facteur primordial. Ce n'est pas le prélèvement en lui-même qui est long, mais la mise en confiance de l'enfant et des parents, avec une moyenne de 30 min par patient (de 20 à 45 min) contre environ 10 pour le reste de la population pédiatrique. Il faut donc anticiper cela et ne pas avoir d'autre patient en charge. L'une des premières initiatives fut donc de créer un parcours parallèle pour ces patients afin de les sortir du flux classique des prélèvements toutes disciplines confondues. La douleur est un des points qu'il ne faut surtout pas négliger, afin que non seulement le soin se passe le mieux possible, mais aussi renforcer la confiance du patient et son entourage dans la prise en charge. Emla®, Meopa® sont prescrits systématiquement, tablette, smartphone, jouet, …tous les moyens sont mis à disposition pour distraire l'enfant. Le visuel est certainement l'un des points à approfondir car il s'est avéré que dans la moitié des cas la tablette est aussi efficace que le Meopa
Grâce à ce parcours de soins, les échecs de prélèvements sont rares puisque 164/167 enfants ont pu être prélevés à ce jour.

P009 : Caractérisation phénotypique de sept femmes porteuses d'une mutation hétérozygote du gène KDM5C

Auteurs :

Virginie Carmignac (1, 2), Sophie Nambot (3, 4), Jamal Ghoumid (5), Thomas Smol (6, 7), Caroline Thuillier (7), Cécile Zordan (8), Thierry Bienvenu (9, 10), Renaud Touraine (11), Daphné Lehalle (12), Patrick Callier (13, 14), Thibaud Jouan (15), Julien Thevenon (16, 14), Christophe Philippe (15), Frederic Tran Mau Them (16), Yannis Duffourd (16, 14), Emilie Tisserant (16, 14), Laurence Faivre (17, 14), Christel Thauvin Robinet (15, 18)

1. Equipe Génétique des Anomalies du Développement, INSERM UMR1231, Dijon, France
2. , Université de Bourgogne, Dijon, France
3. Centre de référence «Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs», 5. Fédération Hospitalo-Universitaire Médecine Translationnelle et Anomalies du Développement (FHU TRANSLAD), , Centre de Génétique, Hôpital d'Enfants, CHU Dijon Bourgogne, Université de Bourgogne-Franche Comté,, Dijon, France
4. Unité fonctionnelle d'Innovation en Diagnostic génomique des maladies rares, CHU Dijon Bourgogne, Dijon, France, Dijon, France
5. Service de Génétique Clinique, Hôpital Jeanne de Flandre, CHRU, Lille, Lille, France
6. Service de Génétique Clinique, Hôpital Jeanne de Flandre, CHRU, Lille, Dijon, France
7. RADEME (Research team on rare developmental and metabolic diseases), Université de Lille, Lille, France
8. Service de Génétique clinique, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France
9. Inserm, U1016; Laboratoire de Biochimie et Génétique Moléculaire, institut Cochin; Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Groupe Universitaire Paris Centre, Paris, France
10. UMR8104, Paris, CNRS, Paris, France
11. 12. Service de Génétique Clinique, Chromosomique et Moléculaire, Centre de Référence des Anomalies du Développement, CHU de Saint-Etienne, Saint-Priest-en-Jarez, France
12. 2. Centre de référence «Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs», 5. Fédération Hospitalo-Universitaire Médecine Translationnelle et Anomalies du Développement (FHU TRANSLAD), , Centre de Génétique, Hôpital d'Enfants, CHU Dijon Bourgogne, Université de Bourgogne-Franche Comté,, Dijon, France
13. Equipe Génétique des Anomalies du Développement, 4. Unité fonctionnelle d'Innovation en Diagnostic génomique des maladies rares, INSERM UMR1231 Université de bourgogne CHU dijon, Dijon, France
14. Fédération Hospitalo-Universitaire Médecine Translationnelle et Anomalies du Développement (FHU TRANSLAD, CHU Dijon Bourgogne et Université de Bourgogne-Franche Comté, Dijon, France
15. Equipe Génétique des Anomalies du Développement, Unité fonctionnelle d'Innovation en Diagnostic génomique des maladies rares, INSERM 1231, Université de Bourgogne, CHU Dijon, Dijon, France
16. Equipe Génétique des Anomalies du Développement, Unité fonctionnelle d'Innovation en Diagnostic génomique des maladies rares, INSERM UMR1231 Université de bourgogne CHU dijon, Dijon, France
17. Equipe Génétique des Anomalies du Développement, 2. Centre de référence «Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs», Centre de Génétique, Hôpital d'Enfants, INSERM 1231, Université de Bourgogne, CHU, Dijon, France
18. 3. Centre de référence « Déficiences intellectuelles », Centre de Génétique, Hôpital d'Enfants, CHU Dijon Bourgogne, Dijon, France

Mots clefs : séquencage haut débit d'exome, KDM5C, déficience intellectuelle liée à l'X, filles, partage de données

Résumé :

La déficience intellectuelle liée à l'X (DILX) se caractérise par une hétérogénéité clinique et génétique extrême avec des formes syndromiques et non syndromiques impliquant plus d'une centaine de gènes. À ce jour, 28 mutations ont été reportées dans le gène de la déméthylase 5C lysine spécifique (*KDM5C*), qui code pour une histone déméthylase. *KDM5C* est associé au retard mental syndromique lié à l'X type Claes-Jensen (OMIM #300534) et apparaît comme l'une des causes principales de DILX chez les hommes. Les individus atteints présentent une déficience intellectuelle (DI) modérée à sévère, des troubles du comportement, une épilepsie, une petite taille et une dysmorphie faciale, associées à des anomalies squelettiques et génito-urinaires. Dans la littérature, la plupart des mutations identifiées chez les hommes ségrègent chez leurs mères et leurs sœurs. Celles-ci peuvent être asymptomatiques, présenter des difficultés d'apprentissage mais rarement une véritable DI, qui s'avère *à priori* plus modérée que celle observée chez les hommes. Néanmoins, les descriptions phénotypiques de ces femmes atteintes sont rares et peu détaillées.

Notre objectif est de décrire de manière approfondie les caractéristiques cliniques et moléculaires des femmes porteuses de variations hétérozygotes du gène *KDM5C*.

Nous avons identifié par séquençage haut débit d'exome deux patientes porteuses de variants hétérozygotes dans le gène *KDM5C* dans une série de patients atteints de DI et/ou d'anomalies du développement. Grâce à un appel à collaboration national et international, nous avons recruté cinq autres patientes non apparentées porteuses de variants hétérozygotes du gène *KDM5C*. Au total, nous reportons 7 nouveaux variants (3 tronquants et 4 faux-sens), 3 *de novo*, 3 hérités et 1 de transmission non déterminé, chez sept femmes âgées de 5 à 36 ans. Toutes présentaient une DI légère à modérée, des

troubles du comportement, et des troubles endocriniens incluant retard de croissance, obésité, hypertrichose, aménorrhée et troubles thyroïdiens. 4 patientes sur 7 présentaient une dysmorphie faciale hétérogène. Seulement 2/7 avaient un retard de croissance et 1/7 une épilepsie. Un trouble du langage spécifique prédominant sur l'expression contrastant avec une compréhension correcte pour l'âge cognitif est le trait phénotypique le plus constant et le plus discriminant.

En conclusion, cette étude étend le nombre de mutations *KDM5C* reportées chez des femmes symptomatiques et supportent le rôle de ce gène dans la DI chez les femmes. Elle met en évidence l'implication croissante dans les cas féminins sporadiques de gènes précédemment connus pour être responsables de DILX chez les hommes.

P010 : Origines historiques de la mutation G2019S dans la population Nord Africaine

Auteurs :

Sawssan Ben Romdhan (1), Suzanne Lesage (1), chokri Mhiri (2), Sawssan Ben Romdhan (3)

1. , , Paris, France
2. , , Sfax, Tunisie
3. , ICM, Paris, France

Mots clefs : Parkinson, G2019S, Berbères

Résumé :

Introduction : La mutation G2019S du gène *leucine-richrepeat kinase 2* (*LRRK2*) est la cause la plus fréquente des formes monogéniques de la maladie de Parkinson dans la population Nord-africaine, représentant plus de 40% des cas parkinsoniens. Cette mutation est portée sur trois haplotypes différents dont le plus fréquent (haplotype1) est apparu il y a 4000 ans, probablement du Moyen-Orient. Étant donné que cette région contient différentes ethnies; essentiellement des Arabes et des Berbères; nous avons recherché l'origine ethnique de 128 patients nord-africains, porteurs de la mutation G2019S.
Patients et méthodes : L'ADN de 72 patients hommes porteurs de la mutation G2019S ont été génotypés pour un premier lieu pour l'haplotype le plus fréquent porteur de la mutation G2019S (haplotype 1) puis ont été criblés pour différents marqueurs du chromosome Y pour la recherche des 4 haplo-groupes: E (YAP, PN2, PN1, M215, M35, M81, M78, M123); R (M207, M173, M343, M17, M335); Q (M242) et J (DYS11-12f2, M304, M267, M172).
Résultats : L'haplotype 1, dont l'effet fondateur a eu lieu au Moyen-Orient et daté y a 4000 ans, a été identifié chez 100% des 72 patients hommes porteurs de la mutation G2019S. Chez ces patients, le sous-haplo-groupe représentatif de l'origine berbère E1B1B1B (YAP/PN2/M215/M35/M81) a été identifié chez 51.4% des patients hommes porteurs de la mutation (p-value = 0.0002). L'ensemble des deux sous- haplo-groupes représentatifs de l'origine Arabe :J1-M267 (DYS11-12f2/M304/M276)et J2-M172 (DYS11-12f2/M304/M172) ont été retrouvés chez 36.1% des patients hommes porteurs de la mutation G2019S.Le troisième sous-haplo-groupe, R1B1A (M207/M173/M343/V88) représentatif de l'origine Afrique subsaharienne a été retrouvé chez 12,5% des patients porteurs.
Ces résultats suggèrent que la mutation G2019S a une origine Berbère plutôt que Arabe.

P011 : Un variant stop de novo de ZSWIM6 et récurrent chez 7 patients présentant une déficience intellectuelle sévère sans malformations craniofaciale et/ou des membres

Auteurs :

Christopher T gordon (1), Elizabeth E palmer (2), raman kumar (3), marie shaw (4), Laurence hubert (5), renee caroll (3), marlene rio (6), lucinda murray (7), seema lalani (8), francesca filippini (9), christine bole-feysot (10), patrick nitschké (11), alexandra garrigue (12), genevieve de saint basile (12), arnold munnich (5), william newman (13), claude besmond (5), jill rosenfeld (8), michael field (7), jeanne amiel (14)

1. , Laboratory of Embryology and Genetics of Human Malformations, INSERM UMR 1163, Institut Imagine, paris, France
2. , Genetics of Learning Disability Service, Hunter Genetics, Waratah, NSW 2298, Australia, Waratah, Australie
3. , Adelaide Health and Medical School and the Robinson Research Institute, The University of Adelaide, Adelaide, Australie
4. , Adelaide Health and Medical School and the Robinson Research Institute, The University of Adelaide, adelaide, Australie
5. , Translational Genetics, INSERM UMR 1163, Institut Imagine, paris, France
6. Service de Génétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, APHP , Institut Imagine, paris, France
7. , Genetics of Learning Disability Service, Hunter Genetics, Waratah, Australie
8. , Molecular and Human Genetics, Baylor College of Medicine, Houston, Texas, Etats-Unis
9. , Laboratory of Embryology and Genetics of Human Malformations, INSERM UMR 1163, Institut Imagine, Paris Descartes-Sorbonne Paris Cité University , paris, France
10. , Genomic Platform, INSERM UMR 1163, Institut Imagine, paris, France
11. , Bioinformatic Platform, INSERM UMR 1163, Institut Imagine, paris, France
12. , Laboratory of Normal and Pathological Homeostasis of the Immune System, INSERM UMR 1163, Institut Imagine, paris, France
13. , Manchester Centre for Genomic Medicine, St Mary's Hospital, Central Manchester University Hospitals NHS Foundation Trust, manchester, Royaume Uni
14. Service de Génétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, APHP , Laboratory of Embryology and Genetics of Human Malformations, INSERM UMR 1163, Institut Imagine, Paris Descartes-Sorbonne Paris Cité University , paris, France

Mots clefs : Déficience intellectuelle, anomalie du développement, Corrélation génotype/phénotype, Dominant négatif

Résumé :

Un variant récurrent, faux sens (p.Arg1163Trp) et *de novo* du domaine Sin3-like en C-terminal du gène ZSWIM6 (MIM 615951) a été identifié dans le syndrome de dysostose frontonasale-acromélie (DFNA, MIM 603671) associant une dysplasie frontonasale sévère, une hypoplasie du tibia, une polydactylie preaxiale des pieds, des malformations cérébrales et une déficience intellectuelle sévère. Un effet gain de fonction est suspecté. Les protéines ZSWIM appartiennent à la famille comportant un domaine 'SWIM' en doigt de zinc finger comme c'est le cas des protéines SWI2/SNF2 et MuDR. Elles peuvent lier l'ADN et des protéines mais leurs cibles ne sont pas connues.
Nous rapportons 7 patients non apparentés et présentant une déficience intellectuelle sévère avec troubles de la relation et stéréotypies, porteurs d'un variant dans l'avant dernier exon du gène et responsable d'un codon stop prématuré (NM_020928, c. 2737C > T, p.Arg913Ter) identifié par séquençage d'exome en trio. Aucun patient ne présente de malformations craniofaciale et/ou des membres. Un patient a développé une neuropathie progressive axonale et myélinique avec perte de la marche autonome à l'âge adulte. Une RT-PCR, sur lignée lymphoblastoïde d'un des patients et sur extraction directe d'ARN de sang total chez un autre, montre que l'allèle muté échappe au nonsense-mediated decay (NMD). La protéine attendue est tronquée du domaine Sin3-like en C-terminal et pourrait avoir un effet dominant négatif et ce d'autant plus qu'un variant entrainant une probable perte de fonction n'a pas de conséquence phénotypique. Ceci illustre le risque de négliger un variant prédit responsable d'une perte de fonction comme possiblement responsable d'un phénotype. Enfin, ces résultats confortent le rôle direct de ZSWIM6 dans le développement du système nerveux central et en dehors de malformations craniofaciales sévères. C'est un exemple de gène tolérant à la perte de fonction dont 2 variants (et chacun récurrent) ont des conséquences différentes sur le développement par effet gain de fonction et/ou dominant négatif probable.

P012 : Altérations rétiniennes et dys-sensibilité visuelle dans le syndrome de l'X-fragile

Auteurs :

Chloé Felgerolle (1), Arnaud PÂRIS (1), Maryvonne Ardourel (1), Audrey Bazinet (1), Rafaëlle Rossignol (1), Géraldine Dilhet (1), Arnaud Menuet (1), Jacques Pichon (1), Isabelle Ranchon-Cole (2), Sylvain Briault (3), Olivier Perche (3)

1. Equipe Neurogénétique, UMR7355, INEM, CNRS Orléans, Orléans, France
2. Equipe Biophysiologie, UMR INSERM 1107, Clermont-Ferrand, France
3. Service de Génétique, CHR Orléans, Orléans, France

Mots clefs : X-fragile, FMRP, système visuel, rétine

Résumé :

Le syndrome de l'X-fragile (FXS), déficience intellectuelle (DI) la plus fréquente chez l'homme (1/3000 naissances), a pour origine l'absence d'expression de la protéine FMRP. La perte de cette protéine régulatrice de la traduction protéique neuronale et gliale engendre des anomalies structurelles et fonctionnelles des synapses nommées immaturités neuronales. Ce phénotype cellulaire est considéré comme l'origine du phénotype clinique du FXS. Ce dernier se compose d'une DI, d'anomalie du comportement ainsi que de troubles sensoriels. Parmi ces troubles sensoriels, les altérations de la fonction visuelle se caractérisent par une diminution de la sensibilité aux contrastes, aux textures et aux mouvements. Ces troubles visuels sont classiquement considérés comme uniquement d'origine centrale, liée à l'immaturité neuronale.
Récemment nous avons montré chez la souris que la protéine Fmrp est exprimée dans la rétine, le tissu nerveux périphérique responsable de la capture des stimuli lumineux, et à l'origine de la perception visuelle. Chez le modèle murin du FXS, (souris *Fmr1*$^{-/y}$), la fonction rétinienne mesurée par électrorétinogramme (ERG) est fortement altérée et est caractérisée par une réduction des ondes issues des photorécepteurs et de la rétine interne. Ces résultats peuvent expliquer une diminution des capacités de perception des contrastes et des textures. Ce phénotype électrophysiologique est associé à des dérégulations protéiques mais surtout à une immaturité des neurones rétiniens. Ainsi, l'absence de la protéine Fmrp dans la rétine engendre des altérations moléculaires et cellulaires similaires à celles observées au niveau cérébral. De plus, par des tests comportementaux impliquant majoritairement la perception de stimuli visuels (acuité visuelle), nous avons montré que les souris *Fmr1*$^{-/y}$ présentent une réponse comportementale diminuée, en adéquation avec les anomalies de l'ERG.
Par conséquent, nos travaux démontrent que le phénotype sensoriel visuel du FXS résulte très probablement de l'addition des effets d'anomalies rétiniennes et cérébrales.
Ainsi, comprendre la part du phénotype de perception rétinienne dans le phénotype sensorielle visuelle du FXS pourrait permettre de mieux appréhender la physiopathologie du FXS et ainsi, à terme, améliorer les conditions de vie de patients.

P013 : L'exome clinique appliqué aux anomalies du tube neural confirme le rôle primordial des gènes de la polarité planaire cellulaire

Auteurs :

Marie BEAUMONT (1), Wilfrid CARRE (1), Linda AKLOUL (2), Hubert JOURNEL (3), Laurent PASQUIER (2), Mélanie FRADIN (2), Chloé QUELIN (2), Houda HAMDI-ROZE (1), Christèle DUBOURG (1), Valérie DUPE (4), Sylvie ODENT (2), Véronique DAVID (1, 4)

1. Service de Génétique Moléculaire et Génomique, CHU Pontchaillou, Rennes, France
2. Service de Génétique Clinique, CHU Rennes, Rennes, France
3. Service de Génétique Clinique, CH Bretagne Atlantique, Vannes, France
4. IGDR UMR6290 CNRS, , Université Rennes1, Rennes, France

Mots clefs : anomalies du tube neural, spina bifida, exome médical, polarité planaire cellulaire

Résumé :

Le spina bifida est une anomalie congénitale de fermeture du tube neural ayant pour conséquence de graves malformations allant de l'anencéphalie au myéloméningocèle ou spina bifida. Il est reconnu depuis longtemps que l'étiologie de cette pathologie est à la fois génétique et environnementale. Toutefois, un nombre limité de gènes a été impliqué dans l'apparition de cette malformation congénitale et aucun centre ne propose actuellement l'étude de ces gènes en raison de la lourdeur de la technique de séquençage classique. Le développement des technologies de séquençage à haut débit de nouvelle génération (NGS), ouvre la possibilité d'étudier un large panel de gènes ou d'étendre systématiquement cette recherche à l'ensemble des séquences codantes du génome (exome). Dans cette étude nous avons choisi une solution intermédiaire qui consiste à séquencer les exons des gènes OMIM (exome clinique).
Cette approche a été utilisée pour étudier une cohorte de 50 patients non apparentés et 36 parents, incluant 14 familles avec un ou deux cas recrutées dans les Services cliniques des CHU de Rennes et de Vannes, 9 fœtus issus d'une interruption médicale de grossesse ainsi que 25 adultes isolés recrutés lors de consultations de génétique au Centre de Référence Spina Bifida de Rennes.
Cette série de 50 patients complète et renforce les données de la littérature sur la génétique des anomalies du tube neural, puisqu'aucun variant dans la voie du métabolisme des folates n'a été identifié. En revanche, ces résultats soulignent l'implication majeure des gènes de la voie de polarité planaire cellulaire puisque nous avons identifié une mutation *de novo* dans *PTK7* dans un trio et obtenu une fréquence élevée de variants rares dans *CELSR1* et *PTK7*. Les variants du gène *FREM2* sont aussi surreprésentés dans cette étude, impliquant ainsi dans les anomalies du tube neural la voie FRAS/FREM connue pour être importante pour le développement précoce. Enfin, ces résultats démontrent une possible transmission oligogénique, maintenant reconnue dans d'autres anomalies du développement.
Cette étude sur 50 patients confirme la grande hétérogénéité génétique des anomalies du tube neural mais renforce l'implication de la voie de la polarité planaire cellulaire.

P014 : Influence de la taille de l'expansion GGGGCC du gène C9orf72 dans différentes régions cérébrales sur les phénotypes des patients avec démence frontotemporale et/ou sclérose latérale amyotrophique

Auteurs :

Clemence Fournier (1), Mathieu Barbier (1), Vincent Anquetil (1), Agnès Camuzat (1), Véronique Sazdovitch (2), Marion Houot (3), Vincent Deramecourt (4), Daisy Rinaldi (3), Alexis Brice (1), Ellen Gelpi (5), Charles Duyckaerts (2, 6), Isabelle Le Ber (1, 3)

1. ICM-Inserm U1127 - UPMC-P6 UMR S1127 , Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Paris, France
2. Laboratoire de Neuropathologie Escourolle, AP-HP , Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Paris, France
3. Institut de la Mémoire et de la Maladie d'Alzheimer (IM2A) Département de Neurologie, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Paris, France
4. Univ. Lille, Inserm, CHU Lille, UMR-S 1172 , JPArc - Centre de Recherche Jean-Pierre AUBERT Neurosciences et Cancer,, Lille, France
5. Neurological tissue Bank of the Biobanc , Hospital Clinic IDIBAPS , Barcelone, Espagne
6. NeuroCEB Brainbank Network, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Paris, France

Mots clefs : Démence Frontotemporale, C9orf72, héxanucléotide, sclérose latérale amyotrophique

Résumé :

Les démences frontotemporales (DFT) représentent la deuxième cause de démences dégénératives du sujet jeune après la maladie d'Alzheimer. Elles se manifestent par des troubles comportementaux et du langage d'évolution progressive. Dans 15% des cas environ elles sont associées à une Sclérose Latérale Amyotrophique (SLA) responsable d'un déficit moteur progressif. Une expansion hexanucléotidique GGGCC dans le premier intron du gène *C9orf72* est la principale cause de forme autosomique dominante de DFT, associée ou non à la SLA. Le seuil pathologique est établi à > 23 GGGGCC, mais les expansions sont souvent de très grande taille, allant de quelques centaines à plusieurs milliers de répétitions GGGGCC. À ce jour, la relation entre la longueur de l'expansion d'une part, et les caractéristiques cliniques ou moléculaires d'autre part, n'est pas clairement établie. Plusieurs études évaluant l'influence de la longueur de l'expansion sur différentes données cliniques ont mené à des résultats contradictoires.
Cette étude a été menée afin d'obtenir une information claire et fiable quant à une corrélation entre la taille de l'expansion et l'âge de début des symptômes ou le phénotype clinique (DFT vs SLA). La taille de l'expansion GGGGCC a été déterminée par southern-blot sur l'ADN extrait des cortex frontaux issus de prélèvements post-mortem de 46 patients porteurs de mutation *C9orf72*, incluant 23 patients DFT, 6 patients SLA, 17 patients avec DFT-SLA. La taille de l'expansion a également été évaluée dans d'autres régions du système nerveux central (cortex occipital, cortex moteur primaire et moelle épinière) et dans les lymphocytes d'un sous-groupe de patients de cette cohorte pour lesquels ces prélèvements étaient disponibles.
Nos résultats montrent que la taille de l'expansion dans le cortex frontal n'est pas significativement différente dans les trois groupes phénotypiques étudiés (DFT et / ou SLA). La taille de l'expansion varie selon les régions cérébrales étudiées et dans les lymphocytes chez un même patient. De façon notable, l'expansion détectée dans les lymphocytes n'est pas corrélée à celle observée dans le tissu pathologique. L'âge au début de la maladie est corrélé positivement avec le nombre de répétitions GGGGCC dans le cortex frontal.
Avec cette étude, nous montrons qu'il existe un mosaïcisme de la taille des expansions et que le nombre de répétitions d'hexanucléotide du gène *C9orf72* dans le cortex frontal a un impact sur l'âge de début de la maladie. L'absence de corrélation entre la taille de l'expansion dans les lymphocytes et celle dans le cortex frontal rend difficile la prédiction de l'âge de début à partir de l'analyse effectuée sur sang périphérique.

P015 : Etude du gène TARDBP et de l'agrégation de la protéine TDP-43 dans la Sclérose Latérale Amyotrophique : un rôle pour la SUMOylation

Auteurs :

Cindy Maurel (1), Anna Chami (1), Rose-Anne Thépault (1), Sylviane Marouillat (1), Céline Brulard (1), Hélène Blasco (2), Philippe Corcia (3), Christian Andrès (2), Patrick Vourc'h (2)

1. , Inserm U930, Tours, France
2. Biochimie, Inserm U930, Tours, France
3. Neurologie, Inserm U930, Tours, France

Mots clefs : TDP-43, SUMOylation, agrégation, génétique, SLA

Résumé :

La Sclérose Latérale Amyotrophique (SLA) est une maladie neurodégénérative caractérisée par la présence d'agrégats protéiques dans le cytoplasme des motoneurones en dégénérescence. Une trentaine de gènes sont impliqués dans les formes familiales de la SLA. Les plus fréquemment mutés étant les gènes *C9ORF72*, *SOD1* et *TARDBP.*

Nous avons tout d'abord étudié par séquençage NGS ces 30 gènes dans une cohorte de patients SLA. Nous avons mis en évidence, pour la première fois, la présence d'une nouvelle mutation hétérozygote p.N259S dans le domaine RRM2 (RNA recognition domain 2) de la protéine TDP43 codée par le gène *TARDPB* chez un patient présentant une forme rapide de SLA. L'expression de cette forme mutée de TDP-43 dans une lignée motoneuronale de souris (NSC34) et dans des motoneurones de moelle épinière d'embryons de souris était associée à la formation d'agrégats cytoplasmiques riches en protéine TDP-43. De tels agrégats constituent une des caractéristiques de la maladie [1].

Les mécanismes conduisant à la formation d'agrégats riche en protéines TDP-43 sont encore très mal compris. Nous avons récemment montré l'implication du mécanisme post-traductionnel de SUMOylation dans la formation d'agrégats riches en protéines SOD1 mutée. Nous nous sommes donc intéressés au rôle de ce mécanisme de SUMOylation dans la formation des agrégats riches en TDP-43 présents chez plus de 90% des patients SLA, qu'ils soient porteurs ou non d'une mutation dans le gène *TARDBP* qui la code. Nous avons surexprimé des protéines GFP-TDP43 sauvage (WT) ou GFP-TDP43^{K136R} mutée pour son unique site de SUMOylation, dans des mêmes modèles cellulaires. Les cellules exprimant GFP-TDP43^{WT} présentaient, comme attendu, des agrégats protéiques dans le cytoplasme. De manière très intéressante, nous avons observé que les cellules GFP-TDP43^{K136R} présentaient au contraire des agrégats nucléaires. La surexpression de cette forme mutée était également associée à la présence de neurites de plus longue taille et à une réduction de toxicité, en comparaison à la condition GFP-TDP43^{WT}. Ces résultats suggèrent un rôle important de la voie de la SUMOylation dans la régulation du transport nucléo-cytoplasmique de TDP-43 et confortent l'idée de l'implication de cette voie dans la formation des agrégats protéiques cytoplasmiques dans la SLA.

Ces découvertes de la 1ère mutation du domaine RRM2 de TDP-43 et d'un changement de localisation nucléo-cytoplasmique des agrégats riches en TDP-43 suite à la mutation de son unique site de SUMOylation, renforcent les liens entre cette protéine de liaison aux ARN et les perturbations du métabolisme des ARN et de l'homéostasie des protéines qui sont de plus en plus documentés dans la maladie.

1. Maurel C, et al (2017) Mutation in the RRM2 domain of TDP-43 in Amyotrophic Lateral Sclerosis with rapid progression associated with ubiquitin positive aggregates in cultured motor neurons. Amyotroph Lateral Scler Front Degener 1–3.

P016 : Homozygous METTL23 gene mutations causes mild autosomal recessive intellectual disability with dysmorphic features: A new clinical entity.

Auteurs :

Siham Chafai Elalaoui (1), wiam smaili (1), Abdelali Zrhidri (2), jaber Lyahyai (3), Laure Raymond (4), Egéa Grégory (4), Mohamed Taoudi (4), Said El Mouatassim (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. Centre de Génomique Humaine, , Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université Mohammed V, Rabat, Maroc, rabat, Maroc
3. 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
4. Département de Génétique Moléculaire, Laboratoire Biomnis, Lyon, France, Département de Génétique Moléculaire, Laboratoire Biomnis, Lyon, France, Lyon, France

Mots clefs : homozygous, METTL23 gene, intellectual disability, autosomal recessive

Résumé :

Abstract:
Intellectual disability is a neurodevelopmental disorder that affects 1 to 3% of the population worldwide. About 85% of them fall into the non severe category, receiving the diagnosis of Mild Intellectual Disability and about 25 to 50% are thought to have a genetic cause. This impairement can be grouped into isolated (non-syndromic) or syndromic intellectual disability where patients present with other clinical features in addition to intellectual impairement. However, it is difficult to identify additional subtle clinical signs in the absence of similar cases with the same genetic etiology.
We describe here the case of 2 Moroccan siblings presenting mild intellectual disability with dysmorphic features in which the whole exome sequencing revealed homozygous mutation in the *METTL23* gene. Mutations in this gene have been reported to cause mild intellectual disability but the association with dysmorphic features remains controversial.
By comparing our two cases with those reported previously in the literature, we try to describe a new clinical entity associating a mild intellectual deficiency with characteristic dysmorphic features suggesting to take into consideration the dysmorphy of patients presenting with intellectual disability.

P017 : L'utilisation d'un promoteur alternatif du gène MAPT génère de nouveaux transcrits plus courts dans le cerveau de patient atteints de maladie d'Alzheimer et de paralysie supranucléaire progressive

Auteurs :

Vincent Huin (1, 2), Luc Buée (3), Hélène Behal (4), Julien Labreuche (4), Bernard Sablonnière (5, 2), Claire-Marie Dhaenens (6)

1. UMR-S 1172, Univ. Lille, Inserm, CHU Lille, JPArc - Centre de Recherche Jean-Pierre AUBERT Neurosciences et Cancer, F-59000 Lille, France, Lille, France
2. Institut de Biochimie et Biologie moléculaire, CHU Lille, Centre de Biologie Pathologie et Génétique, Lille, France
3. Inserm, UMR-S 1172, Univ. Lille, Inserm, CHU Lille, UMR-S 1172 - JPArc - Centre de Recherche Jean-Pierre AUBERT Neurosciences et Cancer, F-59000 Lille, France, Lille, France
4. EA 2694 - Santé publique : épidémiologie et qualité des soins, Unité de Biostatistiques, Univ. Lille, CHU Lille, EA 2694 - Santé publique : épidémiologie et qualité des soins, Unité de Biostatistiques, F-59000 Lille, France, Lille, France
5. UMR-S 1172, Univ. Lille, Inserm, CHU Lille, JPArc - Centre de Recherche Jean-Pierre AUBERT Neurosciences et Cancer, Lille, France
6. Univ. Lille, Inserm, CHU Lille, UMR-S 1172, Univ. Lille, Inserm, CHU Lille, UMR-S 1172 - JPArc - Centre de Recherche Jean-Pierre AUBERT Neurosciences et Cancer, F-59000 Lille, France, Lille, France

Mots clefs : MAPT, Promoteur alternatif, Tauopathies, Neurodégénération, Tissu cérébral, Maladie d'Alzheimer, Paralysie supranucleaire progressive, ARN messager

Résumé :

L'utilisation de promoteurs alternatifs est un mécanisme important pour la diversité du transcriptome et la régulation de l'expression des gènes. En effet, cette utilisation de différents promoteurs pour un seul et même gène peut moduler l'expression avec une spécificité tissulaire ou subcellulaire des transcrits et influer l'épissage alternatif. De plus, ces promoteurs alternatifs peuvent aboutir à l'expression d'isoformes protéiques présentant une structure primaire N-terminale différente, ce qui peut modifier la fonction et la localisation subcellulaire de ces protéines. Les tauopathies sont un groupe de maladies neurodégénératives qui comprennent près de 25 entités différentes correspondant à des maladies fréquentes comme la maladie d'Alzheimer, la plus fréquente de tauopathies, mais aussi à d'autres maladies rares comme la paralysie supranucléaire progressive. Ces maladies sont très différentes sur le plan clinique, biologique ou anatomopathologique. Ce qui va donc caractériser et définir ce groupe hétérogène de maladies est l'agrégation cérébrale de protéines tau anormalement phosphorylées. Les protéines tau sont codées par le gène microtubule-associated protein tau (*MAPT*) localisé sur le chromosome 17. L'existence d'un promoteur alternatif pour le gène *MAPT* a été évoquée depuis la fin des années 1990 pour expliquer la spécificité tissulaire de certaines isoformes protéiques et la réponse différentielle aux facteurs de transcription des ARNm. L'utilisation d'un promoteur alternatif pourrait aussi expliquer l'expression et l'agrégation de différentes isoformes de protéines de tau selon les tauopathies. Nous rapportons l'existence d'un promoteur alternatif du gène *MAPT*, situé en 5' du deuxième exon du gène (exon 1). En analysant les bases de données et les tissus cérébraux de témoins et de patients atteints de la maladie d'Alzheimer ou de la paralysie supranucléaire progressive, nous avons identifié de nouveaux transcrits plus courts dérivés de ce promoteur alternatif. Nous avons cloné ces nouveaux transcrits par 5'RACE. Enfin, nous observons grâce à des analyse de qPCR et de 5'RACE-PCR que l'expression de ces transcrits courts est augmentée dans le cerveau de patients atteints de la maladie d'Alzheimer ou de la paralysie supranucléaire progressive. La majorité de ces transcrits courts respectent le cadre de lecture et nous suggérons qu'ils puissent être traduits en de nouvelles isoformes de protéines tau tronquées dans leur région N-terminale. L'activation du promoteur alternatif de *MAPT* dans des conditions pathologiques entraînant la production de protéines tronquées aux fonctions et localisations encore inconnues constitue ainsi un nouveau mécanisme pour expliquer la neurodégénérescence dans les tauopathies.

Huin V, Buée L, Sablonnière B, Dhaenens CM. Alternative promoter usage generates novel shorter MAPT mRNA transcripts in Alzheimer's disease and progressive supranuclear palsy AD and PSP brains. *Scientific Reports, sous presse.*

P018 : Nouveau phénotype dans l'ataxie spinocérébelleuse de type 19/22 : association avec un parkinsonisme, une déficience cognitive et une épilepsie.

Auteurs :

Vincent Huin (1, 2), Isabelle Strubi-Vuillaume (2), Kathy Dujardin (3, 4), Marine Brion (4), Marie Delliaux (4), Delphine Dellacherie (5), Jean-Christophe Cuvellier (5), Jean-Marie Cuisset (5), Audrey Riquet (5), Caroline Moreau (3, 4), Luc Defebvre (3, 4), Bernard Sablonnière (6, 2), David Devos (3, 7)

1. UMR-S 1172, Univ. Lille, Inserm, CHU Lille, JPArc - Centre de Recherche Jean-Pierre AUBERT Neurosciences et Cancer, F-59000 Lille, France, Lille, France
2. Institut de Biochimie et Biologie moléculaire, CHU Lille, Centre de Biologie Pathologie et Génétique, Lille, France
3. U1171 - Degenerative & vascular cognitive disorders, Univ. Lille, Inserm, CHU Lille, Lille, France
4. Service de Neurologie et Pathologies du Mouvement, CHU Lille, Hôpital Roger Salengro, Lille, France
5. Service de Neuropédiatrie, CHU Lille, Hôpital Roger Salengro, Lille, France
6. UMR-S 1172, Univ. Lille, Inserm, CHU Lille, JPArc - Centre de Recherche Jean-Pierre AUBERT Neurosciences et Cancer, Lille, France
7. Service de Pharmacologie médicale, CHU Lille, Faculté de Médecine, Lille, France

Mots clefs : Neurogénétique, Ataxie spinocérébelleuse, Parkinsonisme, Epilepsie, Mutation KCND3, Troubles cognitifs, Troubles neuropsychiatriques

Résumé :

Les ataxies spinocerébelleuses de type 19 et 22 (SCA19 / 22) sont deux maladies génétiques rares correspondant très probablement à la même entité et qui se présentent chez les patients sous la forme d'une atteinte cérébelleuse relativement isolée, parfois associée à des troubles cognitifs. La SCA19 / 22 est causée par des mutations du gène *KCND3* (*potassium voltage-gated channel subfamily D member 3*). Le gène *KCND3* code pour le canal potassium voltage-dépendant Kv4.3, qui a un rôle important pour la repolarisation du potentiel d'action dans les cellules excitables. Dans SCA19 / 22, les mutations modifient l'emplacement et/ou la fonction de la protéine Kv4.3 aboutissant à sa perte de fonction, ce qui modifie l'excitabilité des neurones de Purkinje dans le cervelet et conduit à leur neurodégénérescence. Deux familles françaises non apparentées présentant une ataxie avec un pattern de transmission autosomique dominante ont été examinées dans le service de neurologie du CHU de Lille. Au total, 16 individus affectés ont été examinés sur le plan clinique et 12 individus ont accepté la réalisation d'un examen neuropsychologique. Onze patients (68,8% des porteurs) ont développé un phénotype classique de SCA19 / 22, avec une ataxie cérébelleuse lentement progressive. Cependant un parkinsonisme léger caractérisé par un syndrome akineto-rigide parfois associé à un tremblement a été observé chez huit patients (50% des porteurs). Le phénotype était dominé par l'épilepsie chez cinq patients plus jeunes (31,3%) avec un âge moyen à l'apparition de l'épilepsie de 5,3 ans, alors que l'ataxie était légère, retardée ou non objectivée. En plus de ces caractéristiques cliniques, nous avons observé un large éventail de troubles cognitifs incluant notamment des troubles visuo-spatiaux et nous fournissons les détails sur le profil cognitif dans deux nouvelles familles de SCA19 / 22. L'analyse génétique par TP-PCR et par NGS des gènes connus comme responsables d'ataxie spinocérébelleuse a permis de mettre en évidence chez les deux familles, la mutation c.679_681delTTC, p.F227del du gène *KCND3*, précédemment rapportée comme pathogénique. Nos résultats élargissent le spectre phénotypique de la SCA19 / 22 et suggèrent que le gène *KCND3* devrait être inclus dans la liste des gènes candidats pour l'épilepsie, le parkinsonisme et la déficience intellectuelle lorsque celle-ci est associée à une atteinte cérébelleuse.

Huin V, Strubi-Vuillaume I, Dujardin K, Brion M, Delliaux M, Dellacherie D, et al. Expanding the phenotype of SCA19/22: Parkinsonism, cognitive impairment and epilepsy. *Parkinsonism Relat Disord. sous presse.*

P019 : Validation d'une grille de dépistage des anomalies chromosomiques cryptiques dans une population de sujets schizophrènes : données préliminaires.

Auteurs :

Alice Poisson (1), Caroline Demily (1), Nicolas Franck (2), Marianne TILL (3), Emilie Favre (1), Damien Sanlaville (3)

1. GénoPsy, CH le Vinatier, Lyon, France
2. Service Universitaire de Réhabilitation, CH le Vinatier, lyon, France
3. laboratoire de cytogénétique et unité de génétique clinique, hcl, Lyon, France

Mots clefs : CGH array, Schizophrénie

Résumé :

La schizophrénie est l'une des pathologies psychiatriques les plus invalidantes. D'une prévalence d'environ 1%, elle est largement répandue dans la population générale. L'espérance de vie des personnes schizophrènes est diminuée d'au moins quinze ans par rapport à la population générale. En général, la schizophrénie évolue de manière isolée. Plus rarement elle peut être la manifestation d'une anomalie génétique sous-jacente, comme par exemple une microdélétion 22q11.2. Le terme de « schizophrénie syndromique » est alors utilisé. A ce jour, aucune recommandation n'a encore été publiée sur la conduite à tenir en termes d'investigations génétiques dans la schizophrénie.
Afin de déterminer la nature des 'drapeaux rouges' cliniques devant faire suspecter une schizophrénie syndromique liée à un remaniement chromosomique cryptique, nous avons réalisé une étude nommée SCZ-CGH.
Cette étude prévoit l'inclusion de 150 personnes de plus de 15 ans avec un diagnostic de schizophrénie posé selon les critères du DSM V. Pour chacune d'entre elles une grille reprenant les principaux critères d'atypicité de la schizophrénie est remplie à l'issue d'un examen clinique. Les critères d'atypicité évalués sont les suivants : déficience intellectuelle , scolarité spécialisée, trouble du spectre autistique, début précoce, résistance au traitement, confusion, régression, catatonie, hallucinations visuelles, anomalie neurologique, dysmorphie faciale, retard de croissance, antécédent de malformation musculo-squelettique, cardiaque, ORL, autre.
Une CGH array est réalisée pour chaque personne. Si une variation du nombre de copie (pathogène ou de signification clinique inconnue, VOUS) est identifiée une vérification (caryotype standard et/ou FISH et/ou qPCR) est effectuée et les parents sont prélevés.
A ce jour 59 patients ont été inclus (36 hommes, 23 femmes, âge moyen 32 ans). La CGH array a permis d'identifier une anomalie chromosomique déséquilibrée chez 5 personnes :

- Micro délétion 22q11.2 d'environ 3 Mb *de novo* (microdélétion récurrente entre les LCR A et D).
- Dysgonosomie : 48, XXYY.
- Duplication *de novo* de 7 Mb dans la région 16qp13.1p12.3 incluant le gène *NDE1*.
- Gain de 1.7 Mb en 3p12.3 interprété comme un VOUS en attendant la ségrégation familiale.
- Gain de 247 kb hérité de la maman en 2q32.3 de signification indéterminée (VOUS).

Trois des cinq anomalies expliquent ou participent au phénotype du patient. Chacun des 5 patients présentait au moins un critères d'atypicité, notamment : antécédent de scolarité spécialisée avec ou sans déficience intellectuelle, précocité des troubles (avant 14 ans) et résistance au traitement.
Ces résultats préliminaires confirment d'une part la nécessité d'une évaluation clinique fine dans la schizophrénie et l'intérêt d'un avis génétique en cas de « drapeau rouge ». La pertinence de ces derniers reste à être confirmée sur le reste de la cohorte puis à être répliquée sur une population plus vaste.

P020 : Etude protéique des myopathies autosomiques récessives dans la population tunisienne

Auteurs :

Sabrine REKIK (1), Salma SAKKA (2), Chokri MHIRI (2)

1. CHU Habib Bourguiba , Laboratoire de recherche en Neuroscience LR-12-SP-19, Sfax, Tunisie
2. Service de Neurologie, CHU Habib Bourguiba, Sfax, Tunisie

Mots clefs : LGMD2, étude protéique, immunohistochimie, western blot

Résumé :

Introduction : Les myopathies autosomiques récessives (MAR) sont un groupe d'affections musculaire rares. Ils ont en commun un déficit moteur des deux ceintures, un aspect dystrophique à la biopsie musculaire. L'hétérogénéité clinique rend le diagnostic génétique difficile. A ce jour, 31 localisations génétiques ont été identifiés. L'identification de la déficience protéique peut orienter l'étude génétique. L'objectif de notre étude est de déterminer les différents types des myopathies autosomiques récessives (LGMD2) dans la population tunisienne basée sur l'étude protéique par Immunohistochimie (IHC) et Western blot Multiplex (WB) en insistant sur les difficultés de l'orientation génétique devant une MAR.
Méthodes : Nous avons mené une étude rétrospective concernant les patients suivis pour LGMD2 durant la période de 1992-2017. Nous avons inclus les patients présentant un phénotype clinique LGMD2, des valeurs de créatine phosphokinases élevés et une biopsie musculaire en faveur d'une atteinte dystrophique. Nous avons recueilli sur une fiche préétablie les données cliniques et l'examen neurologique détaillé ainsi que l'arbre généalogique. Une étude immunohistochimique a été faite pour 30 patients. Un western Blot multiplex a été fait pour 39 patients.
Résultats : Nous avons colligé 48 patients appartenant à 26 familles. Un déficit protéique touchant la dysferline et la Sarcoglycane gamma a été détecté, respectivement, chez 10 et 11 patients par IHC et WB. L'étude en IHC a montré l'absence de la sarcoglycane alpha chez 6 patients et la sarcoglycane béta chez 3 patients. L'examen par WB a montré l'absence des bandes spécifique de la calpaine 3 chez 12 patients. Cependant, il a révélé une déficience en un ou plusieurs protéines chez 6 patients. En effet, 2 patients ont des déficiences protéiques en Sarcoglycane alpha et gamma, 2 patients en Sarcoglycane alpha et beta et 2 patients en Sarcoglycane beta, gamma et delta. En se basant sur ces examens, 12 patients avaient un phénotype LGMD2A, 10 patients avaient un phénotype LGMD2B, 11 patients un phénotype LGMD2C, 6 patients avaient un phénotype LGMD2D et 3 patients avaient un phénotype LGMD2E. Le phénotype clinique était indéterminé chez six patients puisqu'ils présentaient une déficience en plusieurs protéines.
Conclusion : Cette étude nous a montré que les sarcoglycanopathies sont les formes les plus fréquentes dans la population tunisienne rejoignant les données de la littérature. Sur le plan clinique on peut différencier les différents sous types de MAR. L'analyse immunologique a permis une orientation diagnostique. Un déficit protéique en immunomarquage ou en WB ne signe pas toujours la responsabilité de la protéine. L'analyse génétique est obligatoire pour la certitude diagnostique.

P021 : Un nouveau cas de micro-duplication du gène FMR1 illustrant l'effet dose dépendant de ce gène dans la fonction neurocognitive.

Auteurs :

Laurence LOHMANN (1), Aicha Boughalem (1), Pascale Kleinfinger (1), Detlef Trost (1), Wendy Timbria (1), Jeanne Fournier (2), Charlène Hervet (2), Roxana Condor (3), Jean Marc Costa (2)

1. Cytogénétique, Laboratoire Cerba, Saint Ouen l'Aumône, France
2. Génétique Moléculaire, Laboratoire Cerba, Saint Ouen l'Aumône, France
3. Pédiatrie, Centre Hospitalier Marne la Vallée, Jossigny, France

Mots clefs : Micro-duplication FMR1, X fragile, troubles du comportement, ACPA

Résumé :

Nous rapportons le cas d'un garçon âgé de 7 ans adressé pour troubles du comportement, chez lequel une micro-duplication de 835 Kb en position Xq27.3q28 impliquant le gène *FMR1* ainsi que l'exon 1 du gène *AFF2* a été identifiée par ACPA. L'analyse du triplet CGG localisé dans la région 5'UTR du gène *FMR1* (locus FRAXA) par PCR fluorescente a permis de mettre en évidence la présence de deux allèles avec respectivement 20+/-1 et 22+/-1 répétitions de CGG confirmant la duplication. Une analyse par ACPA ainsi qu'une analyse des triplets CGG chez la mère sont en cours de réalisation.

En contraste avec le nombre important de publications sur la perte de fonction du gène *FMR1*, à ce jour, il n'y a que très peu de cas rapportés de gain de copies du gène *FMR1*. Deux publications rapportent trois cas de micro-duplications *FMR1* de novo : l'une de 86 Kb chez un garçon avec retard mental, troubles du comportement, retard de langage et discret retard moteur (Vengoechea et al, Eur J of Human Genet (2012), 20,1197-1200), les deux autres cas de filles avec retard mental léger, troubles du comportement, retard de langage et discret retard moteur (Nagamani SC et al, Neurogenetics. 2012 Nov;13(4):333-9) présentant des micro-duplications de 363 Kb et 348 Kb respectivement.

Notre cas vient étayer le fait que le gène *FMR1* semble être un gène dose dépendant nécessaire à la fonction neurocognitive cérébrale.

P022 : La caractérisation moléculaire et fonctionnelle d'une translocation réciproque identifie les gènes CDH12 et BACH2 comme candidats de polymicrogyrie syndromique

Auteurs :

Elisabeth Visseaux (1), Marie Gonzales (2), Eudeline Alix (3), Audrey Labalme (3), Damien Sanlaville (4), Caroline Schluth-Bolard (4)

1. GENDEV Team, Centre de Recherche en Neurosciences de Lyon, INSERM U1028; CNRS UMR5292; UCBL1, Bron, France
2. Service de Génétique et Embryologie Médicales, Hôpital d'Enfants Armand Trousseau, Paris, France
3. Service de Génétique, Laboratoire de Cytogénétique Constitutionnelle, Hospices Civils de Lyon, Bron, France
4. Service de Génétique, Laboratoire de Cytogénétique Constitutionnelle, CBPE, Hospices Civils de Lyon, Centre de Recherche en Neurosciences de Lyon, INSERM U1028 ; CNRS UMR5292 ; UCBL1 ; GENDEV Team , Bron, France

Mots clefs : translocation, malformations, fœtus, développement cortical, polymicrogyrie, CDH12, BACH2

Résumé :

Les remaniements chromosomiques apparemment équilibrés concernent 1.54‰ des naissances vivantes, parmi lesquels 6 à 9% sont associés à des anomalies phénotypiques. Nous rapportons le cas d'un fœtus de sexe masculin interrompu à 22 SA dans un contexte de syndrome polymalformatif associant un retard de croissance intra-utérin, une arthrogrypose généralisée, une micro-crânie, un micro-rétrognathisme, une hypoplasie surrénalienne bilatérale, ainsi qu'une polymicrogyrie fronto-pariéto-occipitale et une hétérotopie nodulaire périventriculaire. Le caryotype standard a mis en évidence une translocation réciproque apparemment équilibrée entre les chromosomes 5 et 6 : 46,XY,t(5;6)(p14.3;q21). Cette translocation est survenue *de novo* et l'ACPA (puce oligonucléotides 4x180K, Agilent) n'a pas retrouvé de déséquilibre pathogène. Le séquençage d'exome (SeqCap EZ MedExome, Roche) n'a pas mis en évidence de variants pathogènes. Le séquençage génome entier paired-end a permis d'identifier les points de cassure, interrompant 2 gènes : *CDH12* en 5p14.3, codant pour une neurocadhérine impliquée dans la synaptogénèse au cours du développement cérébral et *BACH2* en 6p15, codant pour un facteur de transcription régulant la prolifération et la différenciation des lymphocytes B.
Des études d'expression de *CDH12* et *BACH2* ont été réalisées par RT-qPCR, sur tissus du patient (poumon, thymus) et de fœtus contrôles (cerveau, poumon, thymus, foie) à divers âges gestationnels, de façon à définir leur expression spatio-temporelle au cours de la période fœtale, et leur rôle potentiel dans la polymicrogyrie.
Les résultats ont mis en évidence une expression des 2 gènes candidats dans le cerveau fœtal au deuxième trimestre. *BACH2* est le plus fortement exprimé dans le thymus au deuxième trimestre, modérément dans le thymus au troisième trimestre, et faiblement dans le foie et le poumon au cours du développement fœtal. *CDH12* est le plus fortement exprimé dans le cerveau au deuxième trimestre, à l'exclusion duquel il n'a été retrouvé qu'une faible expression pulmonaire.
Les analyses ont démontré une diminution de 50% de l'expression de *BACH2* dans le thymus du patient par rapport aux contrôles. L'expression pulmonaire n'a pas retrouvé de différence significative d'expression entre patient et contrôles pour l'un ou l'autre des 2 gènes, mais à un très faible niveau d'expression tissulaire.
Il s'agit de la première étude définissant l'expression anténatale de *CDH12* et *BACH2* au cours du développement humain, décrivant leur relative spécificité tissulaire pendant la période fœtale, et associant ces deux gènes à un cas clinique de polymicrogyrie.

P023 : Description phénotypique et profil mutationnel d'une série de patients marocains avec syndrome de Rubinstein Taybi

Auteurs :

Siham Chafai Elalaoui (1), wiam smaili (1), patricia fergelot (2), ilham ratbi (3), mariam tajir (4), Benoit Arveiler (2), didier lacombe (2), 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. 3- CHU de Bordeaux, Service de Génétique Médicale, Hôpital Pellegrin, Bordeaux, France 4- Université Bordeaux, Laboratoire Maladies Rares: Génétique et Métabolisme (MRGM), INSERM U1211, Bordeaux, France., 3- CHU de Bordeaux, Service de Génétique Médicale, Hôpital Pellegrin, Bordeaux, France 4- Université Bordeaux, Laboratoire Maladies Rares: Génétique et Métabolisme (MRGM), INSERM U1211, Bordeaux, France., Bordeaux, France
3. 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
4. 1- Département de Génétique Médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Maroc 2- Faculté de Médecine et Pharmacie, Université Mohammed Premier, Oujda, Maroc. 3- Centre Hospitalier Universitaire Mohammed VI, Oujda, Maroc, 1- Département de Génétique Médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Maroc 2- Faculté de Médecine et Pharmacie, Université Mohammed Premier, Oujda, Maroc. 3- Centre Hospitalier Universitaire Mohammed VI, Oujda, Maroc, rabat, Maroc

Mots clefs : Rubinstein Taybi, CREBBP, mutation, microdélétion.

Résumé :

Le syndrome de Rubinstein-Taybi (RTS) est un syndrome génétique rare, caractérisé par une microcéphalie, des pouces et hallux larges, retard de croissance, et un déficit intellectuel. La dysmorphie faciale est caractéristique avec des sourcils en accent circonflexe, de longs cils, des fentes palpébrales obliques, un nez crochu, un palais ogival et une micrognathie. D'autres caractéristiques peuvent inclure une hypermobilité articulaire, des anomalies oculaires (obstruction des canaux lacrymo-nasaux, glaucome congénital, erreurs de réfraction), cardiaques et/ou cutanées (formations cheloïdes notamment). La constipation est souvent présente tout au cours de la vie et les patients peuvent développer un surpoids à la fin de l'enfance ou au début de la puberté. Les enfants présentent une aptitude marquée à établir d'excellents contacts sociaux. Le RTS est dû majoritairement à des mutations ou microdélétion du gène CREBBP et plus rarement du gène EP300, survenant de novo et transmises sur un mode dominant.
Nous rapportons dans ce travail, les données cliniques et moléculaires d'une série de six patients marocains avec un phénotype de RTS. L'étude moléculaire du gène *CREBBP* a mis en évidence des mutations ponctuelles chez cinq patients. Pour le sixième patient, l'analyse par ACPA a mis en évidence une microdélétion emportant le gène *CREBBP*.
A travers ce travail, nous insistons sur l'importance de l'expertise clinique dans le diagnostic, prise en charge et conseil génétique dans le syndrome de Rubinstein Taybi.

P024 : Résultats des cas brestois des analyses d'exomes en trio du projet hugodims.

Auteurs :

Sylvia REDON (1), Thomas LUDWIG (2), Caroline BENECH (3), Pauline LE BERRE (4), Séverine AUDEBERT-BELLANGER (5), Philippe PARENT (4), Emmanuelle GENIN (2), Claude FEREC (4)

1. Laboratoire de génétique moléculaire, CHRU MORVAN, Brest, France
2. INSERM U1078, CHRU MORVAN, BREST, France
3. Etablissement Français du sang, CHRU Morvan, Brest, France
4. Laboratoire de génétique moléculaire, CHRU Morvan, Brest, France
5. Service de génétique clinique, CHRU MORVAN, BREST, France

Mots clefs : exomes, déficience intellectuelle, trios

Résumé :

Nous avons analysé et confirmé les résultats des onze trios brestois inclus dans un projet interrégional du Grand Ouest appelé HUGODIMS, coordonné par le CHU de Nantes. Ce consortium regroupe les services de Génétique Médicale des Centres Hospitaliers et Universitaires d'Angers, Brest, Nantes, Poitiers, Rennes et Tours et à pour but de rechercher des causes moléculaires de déficience intellectuelle sévère isolée ou syndromique par analyse d'exomes. Les données ont été produites par une plateforme unique et chaque centre avait ensuite pour mission de valider les variants par séquençage Sanger. L'analyse des données bioinformatiques a été effectuée par deux stratégies indépendantes. L'une par le laboratoire nantais porteur du projet et la seconde par notre ressource informatique brestoise afin de confronter et d'élargir les résultats. Le premier filtre a été de rechercher les mutations apparues *de novo* chez les cas index. Les autres filtres ont été successivement de rechercher les mutations transmises selon un mode récessif, puis récessif avec une mutation *de novo* pour finir par une composante hétérozygote composite.
Une mutation apparue *de novo* a été retrouvée, chez 45 à 60% des cas (2 cas en cours de validation), classée de *VOUS* à *Likely pathogenic*. Parmi elles, des mutations dans les gènes *SATB2* (c.1174-1C>T), *ARID1B* (c.5025+1G>A) , *SOX11* (c.269T>C), *GRIN2B* (c.2069G>T), *KCNQ2* (c.1075A>G), *CHD4* (c.3290A>G) et *USP7* (c.2297T>C) ont été retrouvées, associées à des pathologies dominantes avec une mutation apparue *de novo* chez l'enfant. Dans la plupart des cas, les descriptions phénotypiques des enfants s'intègrent dans les syndromes associés aux gènes. Pour les mutations des gènes *SOX11* et *ARID1B*, les patients n'ont pas le phénotype classique du syndrome de Coffin-Siris. Pour autant, les données de la littéraure pour ces gènes rapportent des patients porteurs de caractéristiques phénotypiques « compatibles » ou « subtiles » avec un Coffin-Siris mais sans tableau phénotypique « classique » (Hempel et al., 2016), en accord avec nos résultats. Les analyses bioinformatiques et bibliographiques produites avec les filtres « récessif », « récessif avec une mutation *de novo* » et « hétérozygote composite » n'ont, par ailleurs, pas donné de résultat significatif sur les échantillons négatifs.
Sur l'ensemble du projet, ce sont environ 50% de diagnostics certains qui ont été posés et 17 % de diagnostics probables avec la mise en évidence de nouveaux gènes de fort intérêt dans les déficiences intellectuelles.

P025 : Recherche d'inhibiteurs pharmacologiques et de suppresseurs génétiques de CBS (Cystathionine Beta-Synthase), une enzyme dont la surexpression participe au dysfonctionnement intellectuel dans la trisomie 21

Auteurs :

Alice Léon (1), Damien Maréchal (2), Arnaud Duchon (3), Véronique Brault (3), Nadège Loaëc (1), Marc Blondel (1), Yann Hérault (3), Gaëlle Friocourt (1)

1. Inserm UMR1078, Université de Bretagne Occidentale, Brest, France
2. CELPHEDIA, PHENOMIN, Institut Clinique de la Souris, Strasbourg, France
3. CNRS UMR7104, Inserm UMR964, IGBMC, Strasbourg, France

Mots clefs : métabolisme, cystathionine beta-synthase, déficience intellectuelle, modèle levure, modèle murin

Résumé :

L'enzyme Cystathionine Beta-Synthase (CBS), dont le gène est situé sur le chromosome 21, est surexprimée chez les patients atteints de 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. Ces observations confortent l'hypothèse selon laquelle le niveau d'expression de ce gène serait crucial pour le fonctionnement cognitif et que sa surexpression pourrait contribuer à la déficience intellectuelle observée 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*.
Nous avons donc développé un modèle de levure *S. cerevisiae* surexprimant l'homologue du gène *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 sont ainsi sélectionnées. Nous avons criblé 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) et avons identifié 4 molécules actuellement sur le marché en tant que médicaments, dont 3 ayant des propriétés chimiques communes. L'une de ces molécules a été testée chez des souris surexprimant *Cbs* et donne des résultats très encourageants en supprimant l'effet délétère de la surexpression de *Cbs* sur le fonctionnement cognitif des souris, ouvrant la possibilité de développement de stratégies de repositionnement thérapeutique.
En parallèle, nous avons entrepris d'utiliser notre modèle levure pour rechercher des suppresseurs génétiques de l'effet de la surexpression de CBS. Les gènes identifiés suggèrent un nouveau rôle de CBS dans le trafic vésiculaire.
En conclusion, ces deux approches nous permettront d'une part de mieux comprendre l'impact physiopathologique d'une surexpression de *CBS* et d'autre part le développement de nouvelles stratégies thérapeutiques pour réduire la déficience intellectuelle associée à la trisomie 21.

P026 : Explorer les dimensions phénotypiques et thérapeutiques des syndromes 16p11.2 grâce aux modèles rongeurs

Auteurs :

Sandra MARTIN LORENZO (1), Valerie NALESSO (1), Claire CHEVALIER (1), Thomas ARBOGAST (2), Yann HERAULT (1, 3)

1. Département de Médecine Translationnelle et Neurogénétique, Institut de Génétique, Biologie Moléculaire et Cellulaire, Illkirch, France
2. Département de Médecine Translationnelle et neurogénétique, Institut de Génétique, Biologie Moléculaire et Cellulaire, Illkirch, France
3. , Institut Clinique de la Souris, PHENOMIN, CELPHEDIA, Illkirch, France

Mots clefs : Deletion, duplication, souris, rat, cognition, autisme

Résumé :

Les syndromes de délétion et de duplication de la région 16p11.2 font partie de ces syndromes avec variation du nombre de copies (CNV) affectant dans ce cas un ensemble de 29 gènes, réparti sur 600kb. La prévalence dans la population a été évaluée à environ 1/2000 en fonction des résultats cliniques sévères. Les symptômes indiquent que les deux CNV 16p11.2 induisent des effets opposés sur la morphologie, le métabolisme et la fonction cérébrale avec la suppression associée au trouble du spectre autistique (ASD), alors que la duplication a été associée à l'autisme ainsi qu'à la schizophrénie.
Nous avons généré de nouveaux modèles de souris pour la suppression et la duplication de la région homologue 16p11.2, que nous avons caractérisée par une analyse exhaustive combinant tests comportements et métaboliques. Dans l'ensemble, la dose génétique de la région 16p11 induit une conséquence similaire chez la souris et chez les humains avec des altérations d'activité et de mémoire, mais nous avons constaté que les défauts métaboliques étaient opposés dans les deux espèces.
Ensemble, ces données indiquent que le déséquilibre de dose du locus 16p11.2 perturbe l'expression de modificateurs à l'extérieur de la région qui peut moduler la pénétrance, l'expressivité et la direction des effets chez les humains et les souris. Maintenant, nous étudions de nouveaux modèles obtenus chez la souris pour chercher des gènes candidats et des pistes thérapeutique et chez le rat pour chacun des 2 CNVs. Les analyses chez la souris pointent sur plusieurs gènes impliqués dans le déclin cognitif alors que les travaux sur les modèles rat confirment l'intérêt ce cette espèce pour révéler les altérations du comportement social associé à l'ASD.
Nous présenterons ici des évidences sur l'utilité des deux espèces modèles, pour la compréhension du syndrome, la recherche de gènes candidats et la validation d'approches thérapeutiques.
Financement: Union européenne (FP7 Gencodys, subvention 241995), Subventions de l'Agence Nationale de Recherche (ANR-15-CE16-0015-01) et Gouvernement français pour les investissements pour l'avenir IDEX02 et labex INRT (ANR -10-IDEX-0002-02; ANR-10-LABX-0030-INRT) et l'infrastructure nationale pour la biologie et la santé PHENOMIN (ANR-10-INBS-07) et "Fondation Maladies Rares" à YH.

P027 : RASopathies et profil de personnalité

Auteurs :

Varoona Bizaoui (1, 2), Jessica Gage (3), Rita Brar (4), Katherine A Rauen (5), Lauren Weiss (4)

1. Filière OSCAR, Institut Imagine, Paris, France
2. Service de Génétique Clinique, Hôpital Necker - Enfants Malades, Paris, France
3. Department of Biological Sciences, California State University Stanislaus, Turlock, Etats-Unis
4. Department of Psychiatry and Weill Institute for Neurosciences, University of California San Francisco, San Francisco, Etats-Unis
5. Department of Pediatrics and MIND Institute, University of California Davis, Davis, Etats-Unis

Mots clefs : Personnalité , RASopathies, syndrome cardio-facio-cutané , syndrome de Costello, neurofibromatose de type I , syndrome de Noonan

Résumé :

La personnalité est un trait complexe, et cependant partiellement héritable. Certaines maladies mendéliennes ont déjà été associées à des profils de personnalité spécifiques, comme le syndrome de Williams-Beuren, et pourtant peu d'études sont encore parvenues à établir un lien entre un gène donné ou une voie de signalisation, et la personnalité d'un individu. Les syndromes résultant d'anomalies dans la voie Ras/MAPK sont des maladies monogéniques, résultant majoritairement de gains de fonction, connues pour influencer le comportement et les aptitudes sociales. Les RASopathies pourraient donc nous fournir d'importantes informations sur les bases génétiques de la personnalité.
Nous avons comparé 80 patients atteints de neurofibromatose de type I, du syndrome de Costello, du syndrome cardio-facio-cutané, ou du syndrome de Noonan à 55 frères ou sœurs non atteints, à l'aide d'un hétéro-questionnaire rempli par les parents. Ce questionnaire (BFQ-C : Big Five Questionnaire for Children) évaluait les dimensions de la personnalité décrite par le modèle à 5 facteurs: agréabilité, extraversion, conscienciosité, ouverture et névrosisme. Nous y avons ajouté un court questionnaire spécifique au sens de l'humour. Nous avons d'abord comparé les scores des individus atteints de RASopathies et ceux du groupe contrôle dans chaque composante de la personnalité, avant d'effectuer une comparaison plus globale de leurs profils de personnalité multidimensionnels. Enfin, nous nous sommes intéressés aux résultats de chaque question du questionnaire, individuellement. Nous avons pour cela utilisé des tests de Student, des analyses de variance, et des analyses en composantes principales.
Les individus atteints de RASopathies ont obtenu des scores en moyenne plus faibles que ceux du groupe contrôle pour l'agréabilité, l'extraversion, la conscienciosité, l'ouverture et le sens de l'humour, et des scores similaires au groupe contrôle pour le névrosisme. En comparant les profils multidimensionnels de personnalité entre les groupes, nous avons observé une différence significative entre le profil des individus atteints et de leurs apparentés non atteints, mais aucune différence n'a été retrouvée entre les différentes RASopathies, mettant ainsi en évidence l'existence d'un profil commun aux syndromes de la voie Ras/MAPK. Nous avons pu cependant remarquer certaines particularités au niveau des scores de chaque RASopathie prise séparément, sans pour autant pouvoir distinguer leurs profils multidimensionnels des autres RASopathies.
Nous décrivons pour la première fois une association entre une voie de signalisation unique et un profil de personnalité spécifique, qui nous mènera sans doute vers une meilleure compréhension du développement de la personnalité et des mécanismes génétiques sous-jacents, et vers de nouveaux outils pour l'éducation et la prise en charge des personnes atteintes de RASopathies.

P028 : HTRA1 stop codon mutations are pathogenic and lead to an adult onset vascular leukoencephalopathy

Auteurs :

Thibault COSTE (1), Dominique HERVE (2), Elisabeth TOURNIER LASSERVE (1), Amer AL NAJJAR CARPENTIER (3), Aude JAFFRE (4), Julien COGEZ (5), Valérie LAYET (6), Fatoumata BA (1)

1. Laboratoire de génétique neurovasculaire, AP-HP, Paris, France
2. Service de neurologie, AP-HP, Paris, France
3. Service de neurologie, Centre Hospitalier d'Orsay, Orsay, France
4. Service de neurologie, Hôpital Paul Riquet, Toulouse, France
5. Service de neurologie, Hôpital Côte de Nacre, Caen, France
6. Service de Génétique médicale et cytogénétique, Hôpital Flaubert, Le Havre, France

Mots clefs : small vessel disease, HTRA1, stop codon

Résumé :

Background
Hereditary vascular leukoencephalopathies (HVL) are a heterogeneous group of diseases affecting cerebral small vessels. Bi-allelic loss of function mutations of HTRA1 lead to CARASIL, a very rare, early onset and severe autosomal recessive disease described in Japan. Our team showed recently that heterozygous HTRA1 missense mutations cause a dominant, late onset cerebral small vessel disease in 5% of patients referred for molecular diagnostic of a HVL. HTRA1 encodes a serine protease homotrimer. A dominant negative effect of heterozygous missense mutations causing an alteration of the homotrimer formation or the activation cascade is strongly suspected to cause the disease in these heterozygous missense mutation carriers. So far, only one patient with a mutation leading to a premature stop codon has been reported and the pathogenicity of this type of heterozygous mutations is unknown, precluding any diagnostic and genetic counseling.
Aim of the study
The aim of the present study was to investigate the pathogenicity of this type of mutations in a large series of consecutive HVL patients and characterize the phenotype of these patients.
Patients and methods
A consecutive series of 575 unrelated adult patients referred in 2016 to the neurovascular genetics laboratory of the Lariboisière hospital for suspected inherited HVL was investigated. Mean age of this cohort at referral was 57 (SD=13.4) and sex ratio was 0.8. We performed targeted NGS screening of all HVL known genes, including NOTCH3, COL4A1, COL4A2, HTRA1, TREX1 and APP genes. Clinical and magnetic resonance imaging (MRI) characteristics of mutated patients were determined.
Results
Among these 575 patients, 42 had a bona fide CADASIL mutation in NOTCH3, 11 had a deleterious mutation in COL4A1 or COL4A2 mutations and 13 heterozygous HTRA1 missense mutations. In addition, four patients had a premature stop codon mutation within HTRA1, including, 3 nonsense mutations (C112X, Y169X, and R302X) and 1 frameshift (T100NfsX69). The comparison of the frequency of these stop codon mutations in our consecutive series and control samples from polymorphism databases showed a highly significant difference with ExAC database (p= 2.4x10-6) and 1000 Genomes projects (p=0.045). Clinical and MRI features of these four consecutive patients and an additional recently identified patient were very similar to those observed in heterozygous missense mutation carriers.
Conclusion and perspectives
This study establishes the pathogenicity of HTRA1 stop codons and HTRA1 haploinsufficiency in HVL and suggests that the phenotype of these patients is similar to the ones of heterozygous missense carriers. Additional work on a larger series of HVL unrelated probands, including the search for CNV, as well as a detailed investigation of relatives of clinically affected probands is ongoing.

P029 : Les mutations bi-alléliques du gène UBA5 et l'altération de la voie d'ufmylation sont responsables d'une encéphalopathie à début précoce

Auteurs :

Estelle Colin (1), Jens Daniel (2), Alban Ziegler (1), Jamal Wakim (3), Aurora Scrivo (4), Tobias B. Haack (5), Salim Khiati (3), Anne-Sophie Denommé (1), Patrizia Amati-Bonneau (1), Majida Charif (3), Vincent Procaccio (1), Pascal Reynier (1), Kyrieckos A. Aleck (6), Lorenzo D. Botto (7), Claudia Lena Herper (2), Charlotte Sophia Kaiser (8), Rima Nabbout (9), Sylvie N'Guyen (10), José Antonio Mora-Lorca (11), Birgit Assmann (12), Stine Christ (12), Thomas Meitinger (5), Tim M. Strom (5), Holger Prokisch (5), Antonio Miranda-Vizuete (11), Georg F. Hoffmann (5), Guy Lenaers (3), Pascale Bomont (4), Eva Liebau (2), Dominique Bonneau (1)

1. Département de Biochimie et Génétique, CHU Angers, Angers, France
2. Department of Molecular Physiology, Westfälische Wilhelms-University Münster, Münster, Allemagne
3. UMR CNRS 6214-INSERM 1083 et PREMMI, Université d'Angers, Angers, France
4. Avenir-Atip team, INSERM U1051, Institut de Neurosciences de Montpellier, Université de Montpellier, Montpellier, France
5. Institute of Human Genetics, Technische Universität München, München, Allemagne
6. Department of Genetics and Metabolism, Phoenix Children's Medical Group, Phoenix, Etats-Unis
7. Division of Medical Genetics, Department of Pediatrics, University of Utah, Salt Lake City, Etats-Unis
8. Department of Molecular Physiology, Westfälische Wilhelms-University Münster,, Münster, Allemagne
9. Département de Neuropédiatrie , Centre national de référence des Epilepsies Rares, Hôpital universitaire Necker Enfants Malades, Paris, France
10. Service de neuropédiatrie, CHU Angers, Angers, France
11. Institute de Biomedicine de Seville, University Hospital Virgen del Rocio/ CSIC /University of Seville, Séville, Espagne
12. Department of General Pediatrics, Division of Pediatric Metabolic Medicine and Neuropediatrics, University Hospital Heidelberg, Heidelberg, Allemagne

Mots clefs : UBA5, ufmylation, déficience intellectuelle sévère, encéphalopathie, microcéphalie

Résumé :

Par le biais du séquençage exomique, nous avons identifié des variants bi-alléliques rares dans le gène *UBA5* chez cinq enfants, de quatre familles non apparentées, porteurs d'une déficience intellectuelle sévère, d'une microcéphalie, de mouvements anormaux et / ou d'une épilepsie pharmacorésistante précoce. *UBA5* code pour l'enzyme UBA5 qui est l'enzyme activatrice de la protéine UFM1 (ubiquitin-fold modifier 1), une protéine ubiquitine-like récemment identifiée et qui est impliquée dans le processus d'ufmylation. Les études biochimiques des protéines UBA5 mutantes et sur les fibroblastes provenant d'individus atteints, ont révélé que les mutations dans le gène *UBA5* diminuent le processus d'ufmylation, et qu'il en résulte une structure anormale du réticulum endoplasmique. Chez *Caenorhabditis elegans*, les modèles ko du gène *uba-5* et des gènes orthologues humains impliqués dans la cascade d'ufmylation altèrent la neurotransmission cholinergique mais pas glutamatergique. De plus, chez le poisson zèbre où des morpholinos ciblant *uba5* ont été utilisés, il a été observé une diminution de la motilité ainsi que des mouvements anormaux de type convulsions-like. Ces résultats cliniques, biochimiques et expérimentaux confirment l'implication physiopathologique des variants bi-alléliques *d'UBA5* dans les encéphalopathies à début précoce du fait d'une altération du processus d'ufmylation.

P030 : Etude d'association entre quelques variants du gène ABCA7 et du gène APOE et la maladie d'Alzheimer dans une population Tunisienne

Auteurs :

Afef Achouri-Rassas (1, 2), Wafa Nefzi (1, 2), Saloua Fray (1, 3), Sondes Hadj-Fredj (4), Taieb Messaoud (4), Samir Belal (1, 3)

1. Laboratoire de recherche Neurosciences et Santé mentale, Faculté de Médecine de Tunis, Tunis, Tunisie
2. Service de Biochimie Clinique et de Biologie Moléculaire, Hôpital d'Enfants Béchir Hamza, Tunis, Tunisie , Tunis, Tunisie
3. Faculté de Médecine de Tunis, Université Tunis El Manar, Tunis, Tunisie
4. Service de biochimie clinique et de biologie moléculaire , hôpital d'Enfants Béchir Hamza, Tunis, Tunisie

Mots clefs : ABCA7 (rs115550680, rs142076058), APOE, maladie d'Alzheimer, population tunisienne

Résumé :

La maladie d'Alzheimer (MA) est une pathologie neurodégénérative associant deux lésions neuropathologiques, les plaques amyloïdes et les dégénérescences neurofibrillaires. C'est une pathologie complexe et très hétérogène qui se présente sous deux formes: la forme familiale et la forme sporadique. La génétique de la forme sporadique est complexe en raison de l'inexistence d'un processus héréditaire clair. Elle résulte d'une interaction entre des facteurs de risque environnementaux et une prédisposition génétique. De nombreuses études d'association génétique réalisées dans le cadre du génome (*Genome-Wide Association Studies,* GWAS) ont permis d'identifier plusieurs variants susceptibles d'augmenter le risque de développer la MA. L'allèle ε4 constitue le facteur de risque majeur de la MA, et le gène ABCA7 a été identifié comme un locus de susceptibilité pour la forme tardive de la MA pour la 1ère fois en 2011 par GWAS. Notre étude a porté sur quelques variants du gène ABCA7 et l'allèle E4 du gène APOE et la MA chez une population Tunisienne. 121 participants composés de 59 MA et 62 témoins sains âgés ont été recrutés, des échantillons de sang périphériques ont été recueillis et les variants génétiques des gènes APOE et ABCA7 (rs115550680 et rs142076058) ont été analysés en utilisant la technique PCR-RFLP et le séquençage d'ADN. Les fréquences alléliques et génotypiques du gène APOE ont une différence significative entre patients et témoins, l'allèle APOE4 est un facteur de risque dans notre population (OR = 17.602, IC 95% = 2.284-135.655). Cependant, aucune association n'a été observée entre les variants du gène ABCA7 (rs115550680 et rs142076058) et la maladie d'Alzheimer dans notre population.

P031 : DDX3X : un nouveau gène de déficience intellectuelle prédisposant aux tumeurs ?

Auteurs :

Christine Coubes (1), Christine Coubes (1), Marjolaine Willems (2), Yannis Duffourd (3), David Geneviève (1), Laurence Faivre (4), Julien Thevenon (5), Paul Kuentz (6)

1. Département de Génétique Médicale, Hôpital Arnaud de Villeneuve, CHU de Montpellier, Montpellier, France
2. département de Génétique Médicale, Service de Génétique Médicale, hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
3. Laboratoire de Biologie Moléculaire, CHU de Dijon, Dijon, France
4. Département de Génétique Médicale, CHU de Dijon, Dijon, France
5. Département de Génétique Médicale, CHU de Grenoble, Grenoble, France
6. Laboratoire de Biologie Moléculaire, CHU de Besançon, Besancon, France

Mots clefs : DDX3X, retard intellectuel lié à l'X, voie Wnt, neuroblastome

Résumé :

Des mutations responsables de déficit intellectuel lié à l'X ont été identifiées dans plus de 100 gènes. Les mutations *de novo* dans le gène *DDX3X* sont rares, affectant le plus souvent des individus de sexe féminin. Elles ont été rapportées chez 38 patientes porteuses d'un déficit intellectuel léger à sévère associé à une hypotonie dans 75 % des cas, une épilepsie chez environ 20% des patientes, une spasticité dans 40% des cas, des troubles du comportement chez 20% des patientes. L'IRM cérébrale met en évidence une hypoplasie du corps calleux dans 35% des cas et une malformation corticale chez 10% des patientes.
Nous rapportons 2 nouvelles patientes avec mutations de *DDX3X* identifiées par séquençage d'exome. La patiente 1 est âgée de 6 ans, la patiente 2 de 19 ans. Toutes deux présentent un déficit intellectuel modéré, une hypotonie axiale et des éléments de spasticité périphérique. Il n'existe pas d'autres cas de déficit intellectuel dans leurs familles respectives. L'une comme l'autre ne sont pas épileptiques. La patiente 1 est porteuse d'éléments morphologiques mineurs. Les 2 patientes ont un comportement sociable mais la patiente 2 a des stéréotypies et une tendance à l'automutilation. L'IRM cérébrale de la patiente 1 est interprétée normale alors que celle de la patiente 2 révèle une hypoplasie du corps calleux. Enfin, la patiente 2 a été prise en charge durant les six premiers mois de vie par chirurgie et chimiothérapie pour un neuroblastome.
DDX3X code pour une hélicase impliquée dans divers processus cellulaires incluant transcription, épissage et traduction. Il a été associé à de nombreux processus cellulaires tels le contrôle du cycle cellulaire, l'apoptose et la tumorigenèse. C'est un régulateur clé de la voie Wnt/bêta-caténine.
Les mutations de *DDX3X* sont considérées causales de déficit intellectuel et ont des conséquences sur la voie de signalisation Wnt différentes selon le sexe.
Récemment, le séquençage de l'exome de neuroblastomes a mis en évidence l'implication de plusieurs voies de signalisation dont Wnt. Si de nombreuses mutations somatiques tumorales de *DDX3X* sont déjà décrites, la revue de la littérature concernant la survenue de pathologies tumorales chez les patients porteurs de mutations constitutionnelles de *DDX3X* ne retrouve pas pour l'instant de précédent. L'antécédent de neuroblastome chez la patiente 2 pose la question de l'existence d'une prédisposition tumorale chez les patients présentant une mutation de *DDX3X*.

P032 : RNA éditing : implication au cours du développement de la crête neurale chez la souris.

Auteurs :

Nadjet Gacem (1), Anthula Kavo (2), Laurence Richard (3), Véronique Pingault (1), Jean Michel Vallat (3), Nadège Bondurand (1)

1. NSERM U1163, Equipe Embryologie et Génétique des Malformations Humaines, Institut Imagine, Paris, France
2. INSERM, U955, Equipe 6, IMRB, Créteil, France
3. Centre de Référence "Neuropathies Périphériques Rares", Departement de Neurology, Limoges, France

Mots clefs : Crête neurale, modification post-transcriptionnelle, ADAR1, schwann, mélanocyte, modèle murin.

Résumé :

Les cellules de la crête neurale se caractérisent par leur capacité de migration dans l'embryon et la variété des types cellulaires qu'elles sont capables de générer (dont les mélanocytes, le système nerveux entérique et périphérique). Chez l'homme, plusieurs maladies congénitales affectant des organes et tissus divers ont pour origine une anomalie de migration, survie, prolifération et/ou différenciation de ces cellules. L'étude des bases moléculaires de ces pathologies ainsi que l'analyse de différents modèles animaux ont conduit à l'identification de plusieurs gènes considérés comme des acteurs majeurs au cours du développement de la crête neurale. Le rôle des modifications épigénétiques et post-transcriptionnelles a aussi été récemment mis en évidence, mais leurs contributions aux troubles associés chez l'homme et chez la souris sont encore limitées. Nous avons étudié le rôle d'une des modifications post-transcriptionnelles les plus répandues : la modification d'adénosine en Inosine au niveau des ARNs, au cours du développement de la crête neurale. Médiée par les enzymes de la famille ADAR (adenosine deaminase acting on RNA), cette modification peut, en fonction de la localisation des séquences concernées, entraîner des substitutions d'acide aminés, moduler l'épissage, provoquer la dégradation des ARNs, induire une dérégulation de la transcription ou encore une rétention des ARNs dans le noyau et moduler le processing des miRNA. Des mutations d'*ADAR1* sont responsables d'un certain nombre de cas de syndrome d'Aicardi-Goutières et de dyschromatose symétrique héréditaire. Afin de tester le rôle de cette modification post-transcriptionelle au cours du développement des cellules de la crête neurale, nous avons généré un modèle murin dans lequel *Adar1* a été spécifiquement invalidé dans les cellules d'intérêt grâce à l'utilisation du système Cre/loxP et les lignées Wnt1/HtPA – cre.
Les mutants Adar1 issus de ces croisements présentent une mortalité post-natale précoce accompagnée d'anomalies de myélinisation majeures du nerf sciatique et une quasi-absence de pigmentation. La réalisation de qRT-PCR et immunomarquages nous a permis de mettre en évidence un défaut de différenciation des mélanocytes et des cellules de Schwann (traduit par une absence de nombreux marqueurs de différenciation plus ou moins tardifs). Une combinaison de techniques incluant immunohistochimie et analyse transcriptomique, est en cours afin de déterminer le timing et l'origine moléculaire de ces anomalies ainsi que les conséquences sur le développement d'autres dérivés de la crête neurale.
A terme, l'observation des conséquences d'une dérégulation de ce mécanisme aidera à comprendre son rôle au cours du développement des cellules de la crête neurale en condition normale et pathologique, bénéficiant ainsi à la recherche fondamentale et à la recherche médicale.

P033 : Atteintes neurologiques centrales et périphériques inhabituelles associées à des mutations faux-sens de SOX10: évaluation clinique et conséquences fonctionnelles

Auteurs :

Sandrine Marlin (1), Manoubia Saidani (2), Nadjet Gacem (1), Nathalie Loundon (3), Florence Petit (4), Nathalie Bodaert (5), Isabelle Audo (6), Nathalie Lefort (7), Stanislas Lyonnet (1), Christine Baldeschi (8), Veronique Pingault (1), Nadege Bondurand (1)

1. INSERM U1163, Institut Imagine, Paris, France
2. , I-stem, Evry, France
3. Service d'ORL pédiatrique, Hôpital Necker, AP-HP, Necker, Paris, France
4. Département de Génétique, CHU de Lille, Lille, France
5. Service de radiologie pédiatrique, AP-HP, Necker, Paris, France
6. Service d'ORL, Hôpital Pitié Salpétrière, APHP, Paris, France
7. INSERM U1163, Plateforme iPS, Institut Imagine, Paris, France
8. , I-stem, Paris, France

Mots clefs : SOX10, Waardenburg, PCWH,

Résumé :

Le syndrome de Waardenburg (WS) est une neurocristopathie rare caractérisée par l'association d'anomalies pigmentaires (peau, iris, cheveux) et d'une surdité. Quatre types sont décrits sur des bases cliniques, et sept gènes impliqués à l'heure actuelle. Des 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 inhabituelle, sévère 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'une 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 comprendre l'effet délétère de ces mutations, leurs conséquences ont été évaluées *in vitro* et à l'aide du système iPS. In vitro, la surexpression de 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 un effet dominant négatif a été observé, qui pourraient être à l'origine du phénotype particulier observé chez les patients concernés. La dérivation de clones iPS pour l'un de ces patients et leur différenciation en cellules dérivées de la crête neurale et en neurones est en cours et devrait permettre de comprendre les conséquences de cette mutation sur les processus de différenciation.
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.

P034 : Caractérisation clinique et moléculaire de 15 nouveaux patients et revue de la littérature soutenant le rôle du gène TBR1 dans les troubles du spectre autistique

Auteurs :

Sophie NAMBOT (1), Alice Masurel-Paulet (2), Julien Thevenon (1), Ange-Line BRUEL (3), Anne-Laure Mosca-Boidron (4), Cyril Mignot (5), Sandra Chantot-Bastaraud (5), Julia Metreau (6), Thierry Bienvenu (7), Massimiliano Rossi (8), Amélie Piton (9), Florence Petit (10), Nathalie Lemeur (11), Valerie Layet (12), Daniel Amram (13), Elizabeth Bhoj (14), Dong Li (15), Megan Cho (16), Elise Fiala (17), Dorothy Grange (18), Wendy Meschino (19), Susan Hiatt (20), Hilde Olivier (21), Thibaud Jouan (3), Frederic Tran Mau-Them (4), Christophe Philippe (4), Yannis DUFFOURD (22), Emilie Tisserant (23), Laurence FAIVRE (24), Christel THAUVIN-ROBINET (24)

1. Centre de référence Maladies rares «Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs», Centre Hospitalier Universitaire de Dijon, dijon, France
2. Centre de référence «Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs», Centre de Génétique, Hôpital d'Enfants, Centre Hospitalier Universitaire de Dijon, dijon, France
3. UF Innovation en diagnostic génomique des maladies rares, Centre de Génétique, Hôpital d'Enfants, Centre Hospitalier Universitaire de Dijon, dijon, France
4. UF Innovation en diagnostic génomique des maladies rares, Centre de Génétique, Hôpital d'Enfants, Centre Hospitalier Universitaire de Dijon, DIJON, France
5. Service de Génétique et d'Embryologie Médicales, AP-HP, Hopital Trousseau, Paris, France
6. Service de Neurologie Pédiatrique, Hôpital du Kremlin Bicêtre, Paris, France
7. Service de génétique et biologie moléculaire, CHU Paris Centre – Hôpital Cochin, Paris, France
8. Service de génétique, Centre de référence des anomalies du développement, Hôpital Femme-Mère-Enfant, Groupement Hospitalier Est, bron, France
9. Laboratoire de diagnostic génétique, Hôpital Civil, CHU de Strasbourg, strasbourg, France
10. Clinique de Génétique Guy Fontaine, Pôle de Biologie Pathologie Génétique, CHRU de Lille, Hôpital Jeanne de Flandre, Lille, France
11. Service de Génétique, CHU de Rouen, Rouen, France
12. Service de Génétique, CH Le Havre, LE HAVRE, France
13. Unité de Génétique Médicale, CH Créteil, Créteil, France
14. Department of Genetics, Children's Hospital of Philadelphia, Philadelphia, Etats-Unis
15. Center for Applied Genomics, Children's Hospital of Philadelphia, Philadelphia, Etats-Unis
16. GeneDx Laboratory, GeneDx Laboratory, San Francisco, Etats-Unis
17. Department of Pediatrics, , , Washington University School of Medicine, Saint Louis, Etats-Unis
18. Clinical Genetics , Saint Louis Children's Hospital, Saint Louis, Etats-Unis
19. North York General Hospital, North York General Hospital, Toronto, Canada
20. Richard Myers Lab/Greg Cooper Lab, HudsonAlpha Institute for Biotechnology, Huntsville, Etats-Unis
21. Centre for Developmental Disorders, UZ Leuven, Leuven, Belgique
22. Fédération Hospitalo-Universitaire Médecine Translationnelle et Anomalies du Développement (FHU TRANSLAD),, Centre Hospitalier Universitaire de Dijon, dijon, France
23. Inserm UMR 1231 GAD, Génétique des Anomalies du Développement, dijon, France
24. Centre de Génétique et Centre de référence «Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs», Hôpital d'Enfants, Centre Hospitalier Universitaire de Dijon, dijon, France

Mots clefs : TBR1, troubles du spectre autistique, exome, partage de données, phénotypage inverse

Résumé :

Le gène *TBR1* code pour un facteur de transcription de la famille T-box et est principalement exprimé dans le cortex cérébral. Il joue un rôle essentiel dans la différenciation des neurones néocorticaux, la migration neuronale et la projection axonale au cours du développement embryonnaire. *TBR1* régule plusieurs gènes candidats dans les troubles du spectre autistique (TSA), tels que *GRIN2B*, *CASK*, *AUTS2* et *RELN.* Le séquençage d'exome et la méthode des sondes moléculaires inversées (MIPs) ont identifié 9 variations pathogènes dans le gène *TBR1* chez 9 patients non apparentés issus d'une large cohorte de 3577 patients avec TSA. Dans la littérature, seul un patient porteur d'une délétion 2q24.2 comprenant uniquement *TBR1,* a été décrit de manière détaillée sur le plan clinique. Il présentait une déficience intellectuelle (DI), des troubles du comportement, un retard de croissance, une dysmorphie faciale légère, un pectus excavatum et des mains longues. *TBR1* a donc été rapporté comme un gène fort de susceptibilité à la DI et aux TSA. Cependant, des descriptions phénotypiques fines manquent et *TBR1* n'est toujours pas considéré comme un gène responsable de pathologie humaine dans la base de données OMIM.
Dans cette étude, nous rapportons la caractérisation clinique de 15 patients (9 garçons / 6 filles) non apparentés, porteurs de variants *de novo* du gène *TBR1*, recrutés grâce à une forte collaboration nationale et au partage international de données (PhenomeCentral/GeneMatcher). Les résultats cliniques et moléculaires ont été confrontés à une revue de la littérature. Au

total, parmi les 29 patients, âgés de 3 à 29 ans, 27 présentaient une DI modérée à sévère, associée à des traits autistiques pour 20 d'entre eux. 24/29 patients avaient un retard de langage modéré à profond et 19/29 présentaient des troubles du comportement. Les signes neurologiques incluaient une hypotonie (12/29), des mouvements anormaux à type de dystonie, chorée et tremblements (6/29) et des crises convulsives (3/29). La moitié des patients présentaient des traits dysmorphiques (15/29) sans qu'un phénotype spécifique puisse être identifié. Un peu moins de la moitié des patients présentaient des anomalies squelettiques hétérogènes (14/29) et une petite taille (12/29). Des difficultés alimentaires sévères et une constipation modérée à sévère ont été rapportées chez 7 cas sur 29. Les variations pathogènes du gène *TBR1* incluaient 13 tronquants et 7 faux-sens, toutes situées dans des domaines protéiques fonctionnels, ainsi que 8 délétions allant de 122kb à 12.3Mb.
Grâce au partage de données et au phénotypage inverse, nous présentons içi une description phénotypique détaillée de 15 patients porteurs de variations *TBR1 de novo*, confrontée aux données de la littérature. Ce travail confirme l'implication de ce gène dans la DI et les TSA syndromiques, qui devrait être considéré comme un gène de pathologie humaine et décrit comme tel dans la base de données OMIM.

P035 : Intérêt majeur d'une ré-analyse annuelle prospective des données brutes de séquençage haut débit d'exome pour le diagnostic des maladies rares avec anomalies du développement et/ou déficience intellectuelle

Auteurs :

Sophie NAMBOT (1), Julien Thevenon (1), Paul KUENTZ (2), Ange-Line BRUEL (2), Yannis DUFFOURD (3), Emilie Tisserant (4), Anne-Laure Mosca-Boidron (5), Alice Masurel-Paulet (6), Daphne LEHALLE (7), Nolwenn Jean-Marçais (1), Mathilde Lefebvre (1), Pierre Vabres (8), Salima El Chehadeh-Djebbar (9), Judith St-Onge (2), Thibaud Jouan (2), Martin Chevarin (2), Charlotte Poé (5), Virginie Carmignac (10), Jean-Baptiste RIVIERE (2), Patrick Callier (5), Antonio Vitobello (5), Frederic Tran Mau-Them (5), Christophe Philippe (5), Laurence FAIVRE (11), Christel THAUVIN-ROBINET (11)

1. Centre de référence Maladies rares «Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs», Centre Hospitalier Universitaire de Dijon, dijon, France
2. UF Innovation en diagnostic génomique des maladies rares, Centre de Génétique, Hôpital d'Enfants, Centre Hospitalier Universitaire de Dijon, dijon, France
3. Fédération Hospitalo-Universitaire Médecine Translationnelle et Anomalies du Développement (FHU TRANSLAD),, Centre Hospitalier Universitaire de Dijon, dijon, France
4. Inserm UMR 1231 GAD, Génétique des Anomalies du Développement, dijon, France
5. UF Innovation en diagnostic génomique des maladies rares, Centre de Génétique, Hôpital d'Enfants, Centre Hospitalier Universitaire de Dijon, DIJON, France
6. Centre de référence «Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs», Centre de Génétique, Hôpital d'Enfants, Centre Hospitalier Universitaire de Dijon, dijon, France
7. Centre de référence «Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs», Hôpital d'Enfants, Centre Hospitalier Universitaire de Dijon, dijon, France
8. 3. Fédération Hospitalo-Universitaire Médecine Translationnelle et Anomalies du Développement (FHU TRANSLAD), Centre Hospitalier Universitaire de Dijon, DIJON, France
9. Centre de référence Maladies rares «Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs», Centre Hospitalier Universitaire de Dijon, strasbourg, France
10. Inserm UMR 1231 GAD, Université de Bourgogne Franche-Comté, DIJON, France
11. Centre de Génétique et Centre de référence «Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs», Hôpital d'Enfants, Centre Hospitalier Universitaire de Dijon, dijon, France

Mots clefs : ré-analyse; séquençage d'exome; anomalies du développement; déficience intellectuelle

Résumé :

Les anomalies du développement et la déficience intellectuelle (AD/DI) constituent un défi diagnostique majeur en génétique médicale. La démarche diagnostique traditionnelle n'aboutit à l'identification d'une cause génétique que chez 50% des patients. Contrairement aux approches ciblées, le séquençage haut débit d'exome (WES) permet une analyse diagnostique non restreinte aux hypothèses cliniques et une ré-analyse séquentielle des données.
Afin d'améliorer le diagnostic moléculaire des patients atteints d'AD/DI, nous avons implanté dès 2013 le WES dans notre pratique clinique (interprétation restreinte aux gènes responsables de pathologie humaine dans la base OMIM). De juin 2013 à juin 2016, le WES a ainsi été effectué en solo chez 416 patients avec AD/DI, posant un diagnostic positif d'emblée chez 104 patients (25%). Parmi les 312 patients sans diagnostic (résultats négatif ou incertain), les données brutes de 282 patients ont été ré-analysées et réinterprétées annuellement. Ces ré-analyses étaient effectuées après mise à jour du pipeline bioinformatique et à la lumière des nouvelles données dans la base OMIM. Nous avons obtenu 8,5% de diagnostics supplémentaires (24 patients) : 15 liés au référencement du gène causal dans la base OMIM au cours des 12 mois précédant la ré-analyse, 5 VOUS reclassés, 2 variants OMIM déjà connus lors de l'analyse initiale, et 2 CNV détectés après extension récente du pipeline à l'identification de CNV. A ce jour, le taux diagnostique positif global est de 31%, alors qu'il était de 22% à l'issue de l'analyse initiale en 2014. Cette augmentation est à mettre en relation avec la croissance exponentielle du nombre de gènes identifiés comme responsables d'AD/DI ces dernières années. Si une analyse recherche des données étendue aux gènes non OMIM est associée à la ré-analyse diagnostique stricte, le taux global de résultats positifs atteint 36,3%. Cette ré-analyse recherche nécessite un partage international de données intensif pour la validation de gènes candidats.
Ces résultats confirment la faisabilité et l'intérêt du WES en solo pour le diagnostic moléculaire des AD/DI. Ils démontrent tout particulièrement l'efficacité d'une ré-analyse bioinformatique et d'une ré-interprétation annuelle des données brutes issues du WES. Cependant, bien que cette démarche n'entraîne pas de surcoût de séquençage, elle s'avère coûteuse en temps humain. En l'absence d'une valorisation spécifique de cette ré-analyse pour les laboratoires de diagnostic, il apparaît difficile de la rendre systématique. Cependant, la possibilité d'une ré-analyse devrait être proposée à chaque rendu de résultat diagnostique négatif et réalisée à la demande des patients (ou du prescripteur). De même, une analyse en trio devrait être réalisée avant d'envisager d'autres approches « omics », tel qu'un séquençage haut débit de génome, afin de poursuivre l'exploration des régions codantes, qui ont encore beaucoup de secrets à livrer.

P036 : Les variants tronquants du gène DLG4 sont responsables de déficience intellectuelle associé à un habitus marfanoïde et des troubles visuels

Auteurs :

Sébastien Moutton (1, 2), Ange-Line Bruel (2), Mirna Assoum (2), Martin Chevarin (2), Elisabeth Sarrazin (3), Cyril Goizet (4), Anne-Marie Guerrot (5), Aude Charollais (6), Perrine Charles (7), Delphine Héron (7, 8), Jean-François Deleuze (9), Nada Houcinat (1, 2), Antonio Vitobello (2), Frédéric Tran-Mau-Them (1, 2), Christophe Philippe (1, 2), Yannis Duffourd (2), Christel Thauvin-Robinet (1, 2), Laurence Faivre (1, 2)

1. Service de génétique médicale, centre de référence des anomalies du développement, CHU de Dijon, Dijon, France
2. INSERM U1231, LNC UMR1231 GAD, Université de Bourgogne, Dijon, France
3. Centre de référence caribéen des maladies neurologiques rares et neuromusculaires, CHU Fort de France, Fort-de-France, France
4. Service de génétique médicale, centre de référence des anomalies du développement, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France
5. Service de génétique médicale, CHU de Rouen, Rouen, France
6. Service de médecine néonatale et soins intensifs, Neuropédiatrie et centre de référence des troubles des apprentissages, CHU de Rouen, Rouen, France
7. Centre de Référence "déficiences intellectuelles de causes rares", Hôpital Pitié Salpêtrière, APHP, Paris, France
8. Groupe de Recherche Clinique (GRC) "déficience intellectuelle et autisme" , Université Pierre et Marie Curie, Paris, France
9. Institut de génomique, Centre National de Génotypage, Evry, France

Mots clefs : DLG4, PSD-95, intellectual disability, marfanoid, synaptopathy

Résumé :

L'association d'un syndrome marfanoïde et d'une déficience intellectuelle (DI) représente un groupe hétérogène de maladies génétiques chevauchantes. Dans à peine 20% des cas, le diagnostic moléculaire est posé grâce à l'identification de microremaniements chromosomiques par CGH array et/ou d'une mutation dans un gène connu pour causer le syndrome de Marfan. Différents gènes connus pour être associés à la DI ont été occasionnellement impliqués chez des patients présentant un habitus marfanoïde. Afin d'approfondir les bases moléculaires responsables de cette présentation clinique, nous avons recruté 64 patients dont 33 ont bénéficié d'un séquençage d'exome en trio et 31 ont été explorés par exome solo. Dans environ la moitié des cas, un diagnostic moléculaire a pu être obtenu dans un gène connu de DI.
En partant du principe qu'un grand nombre de gènes impliqués dans la DI sont intolérants aux variants perte de fonction, des filtres bioinformatiques additionnels ont été appliqués pour sélectionner des gènes dont la pLI est supérieure à 0.9 et pour lesquels un variant tronquant a été identifié chez au moins 2 patients de la cohorte. Cinq gènes ont été filtrés. Le gène *DLG4* a été retenu du fait des données bibliographiques et bioinformatiques très en faveur de son implication dans le phénotype exploré. En effet, 3 patients ont été identifiés comme porteurs de variants tronquants de novo absents des bases de données (2 frameshifts et un situé au niveau d'un site consensus d'épissage). Les patients avaient entre 23 et 35 ans et présentaient une DI légère à modérée, des signes marfanoïdes dont un visage long, un palais ogival, une dolichosténomélie, des doigts longs et fins, un pectus excavatum et une scoliose. Un patient présentait un nystagmus et les 2 autres un strabisme. Les études des ARN sur sang total ont montré une haploinsuffisance pour les frameshifts et un épissage aberrant conduisant à un codon stop prématuré pour le variant d'épissage.
Le gene *DLG4* code pour la protéine PSD-95, exprimée dans différents tissus dont le cerveau. Au niveau des neurones, PSD-95 est localisée à la densité post-synaptique associée à la signalisation des récepteurs NMDA. Cette protéine pourrait également participer dans la maturation synaptique glutamatergique. La déplétion en protéine DLG4 changerait le ratio excitation/inhibition des synapses hippocampiques. Des variants tronquants du gène *DLG4* ont été trouvés enrichis dans une cohorte de 820 exomes trio de patients atteints de DI et/ou troubles neurodéveloppementaux en comparaison à des contrôles; deux patients présentaient un déficit visuel.
Au total, nous décrivons 3 nouveaux patients porteurs de variants tronquants du gène DLG4, ce qui permet de confirmer son implication dans la DI et très probablement l'habitus marfanoide, compte tenu de la représentation très élevée de ce gène dans notre cohorte.

P037 : Des mutations de KIAA1109 sont responsables d'un nouveau syndrome associant une arthrogrypose avec des anomalies du développement du cerveau.

Auteurs :

Lucie GUENEAU (1), Richard FISH (2), Hanan E SHAMSELDIN (3), Norine VOISIN (1), Frédéric TRAN MAU-THEM (4), Egle PREIKSAITIENE (5), Glen R MONROE (6), Angeline LAI (7), Audrey PUTOUX (8), Qamariya AMBOSAIDI (9), Laima AMBROZAITYTE (5), Nicolas GUEX (10), Mais HASHEM (3), Wesam KURDI (9), Sylvain PRADERVAND (10), Bernd ROECHERT (10), Peter M. VAN HASSELT (6), Michael WIEDERKEHR (1), Caroline F. WRIGHT (11), Ioannis XENARIOS (10), Gijs W. VAN HAAFTEN (6), Charles SHAW-SMITH (12), Erica M. SCHINDEWOLF (13), Marguerite NEERMAN-ARBEZ (2), Damien SANLAVILLE (8), Gaetan LESCA (8), Bruno REVERSADE (14), Jamel CHELLY (4), Laurent GUIBAUD (15), Vaidutis KUCINSKAS (5), Fowzan S ALKURAYA (3), Alexandre REYMOND (16)

1. Centre Intégratif de génomique, Université de Lausanne, Lausanne, Suisse
2. Department of Genetic Medicine and Development, Université de Genève, Genève, Suisse
3. Department of Genetics, King Faisal Specialist Hospital and Research Center, Riyadh, Arabie saoudite
4. Laboratoire de Diagnostic Génétique, Hôpitaux Universitaire de Strasbourg, Strasbourg, France
5. Department of Human and Medical Genetics, Faculty of Medicine, Vilnius University, Vilnius, Lituanie
6. Department of Genetics and Center for Molecular Medicine, University Medical Center Utrecht, Utrecht, Pays-Bas
7. , KK Women's and Children's Hospital, Singapour, Singapour
8. Service de Génétique, Hospices Civils de Lyon - GHE , Lyon, France
9. Department of Obstetrics and Gynecology, King Faisal Specialist Hospital and Research Center, Riyadh, Arabie saoudite
10. Swiss Institute of Bioinformatics (SIB), University of Lausanne, Lausanne, Suisse
11. Deciphering Developmental Disorders (DDD) Study, Wellcome Trust Sanger Institute, Cambridge, Royaume Uni
12. Department of Clinical Genetics, Royal Devon and Exeter NHS Foundation Trust, Exeter, Royaume Uni
13. Center for Fetal Diagnosis and Treatment, Children's Hospital of Philadelphia, Philadelphie, Etats-Unis
14. Department of Paediatrics, School of Medicine, National University of Singapore, Singapour, Singapour
15. Département d'Imagerie pédiatrique et fœtale, Hôpital Femme Mère Enfant, Université Claude Bernard Lyon 1, Lyon, France
16. Centre Intégratif de génomique, University of Lausanne, Lausanne, Suisse

Mots clefs : Malformations cérébrales, arthrogrypose, whole exome sequencing

Résumé :

Nous décrivons un nouveau syndrome à transmission autosomique récessive et associant des anomalies cérébrales à de multiples rétractions tendineuses.
Nous avons identifié des mutations sur les deux allèles du gène *KIAA1109* chez 13 individus appartenant à 11 familles non apparentées et présentant des symptômes similaires. Ils montrent d'importantes anomalies cérébrales, notamment un sous développement du parenchyme cérébral, une ventriculomégalie sévère à modérée et une hypoplasie cérébelleuse, ainsi que des pieds bots et une arthrogrypose généralisée. Les autres symptômes fréquemment rencontrés incluent la microphtalmie, la cataracte et des anomalies cardiaques. Les cas les plus sévères ne sont pas viables et portent des variants perte-de-fonction, alors que les individus modérément atteints ont des mutations faux-sens. Ces derniers patients présentent un retard de développement sévère, une syndactylie des 2ème et 3ème doigts et une importante hypotonie musculaire résultant en une incapacité à se tenir debout sans support.
La protéine KIAA1109, longue de 5005 acides amines, a été conservée au cours de l'évolution et elle interagit avec d'autres protéines associées au retard mental ou impliquées dans la régulation du cycle cellulaire. Le knock-down de l'orthologue de *KIAA1109* chez le zebrafish produit des embryons présentant une hydrocéphalie et une courbure anormale ce qui est cohérent avec un rôle causal des mutations hypomorphes du gène *KIAA1109* dans ce nouveau syndrome. De manière analogue, les knockouts des orthologues de *KIAA1109* de la drosophile et de la souris résultent en des létalités embryonnaires réminiscentes de celle observée chez les patients portant des mutations perte-de-fonction. Nous suggérons d'appeler ce nouveau syndrome 'Alkuraya-Kučinskas syndrome' puisque ces deux cliniciens sont les premiers à avoir décrit des patients des deux extrêmes du spectre phénotypique de cette pathologie.

P038 : Implication du gène TLE1 dans un cas de microcéphalie postnatale progressive associée à atrophie corticale

Auteurs :

Camille Maillard (1), Mara Cavallin (1), Marion Philbert (1), Marie Hully (2), Nathalie Boddaert (3), Patrick Nitschké (2), Nadia Bahi-Buisson (1)

1. Laboratory of Embryology and Genetics of Congenital Malformations INSERM UMR-1163, Imagine Institute, Paris, France
2. , Imagine Institute, Paris, France
3. Radiologie Pédiatrique, Université Paris Descartes, Hôpital Necker Enfants malades, Paris, France

Résumé :

La microcéphalie postnatale est caractérisée par une décélération de la croissance postnatale du périmètre crânien supérieure à 3 écarts types (SD) au-dessous de la moyenne. Parmi les rares causes de microcéphalie postnatale, les mutations dans FOXG1 sont responsables de microcéphalie sévère associées à un syndrome particulier, comportant une dysgénésie du corps calleux, une dystonie généralisées et des stéréotypies.
Dans le cadre de notre programme de recherche sur les anomalies du développement cérébral, nous avons séquencé l'exome complet en trio d'une patiente issue d'une famille consanguine qui présentait une microcéphalie postnatale progressive extrême (-6SD) associée à une encéphalopathie non épileptique sévère. À la dernière évaluation clinique, à l'âge de 3 ans, l'enfant montrait un retard du développement sévère : pas de tenue de la tête ni acquisition de la position assise, pas de fixation du regard, pas d'utilisation fonctionnelle des mains et pas de langage. Les IRM ont montré une atrophie corticale évolutive, avec une leucoencéphalopathie progressive et une hypoplasie du corps calleux.
L'analyse des données d'exome a permis l'identification d'une substitution conduisant à une variation homozygote du gène TLE1 (p.Asp551Asn) jamais décrite en pathologie humaine. Les prédictions bioinformatiques suggèrent que cet acide aminé muté est fortement conservé à travers les différentes espèces et que la variation provoque un changement de la protéine conduisant à un changement de structure. Des études fonctionnelles sur les fibroblastes de la patiente montrent une diminution significative de l'index de prolifération et mitotique qui sont compatibles avec la microcéphalie extrême de la patiente.
TLE1 est un co-represseur transcriptionnel très fortement exprimé dans Le cerveau en développement, au cours duquel, il participe à la régulation de la survie neuronale post-mitotique. TLE1 dépend de manière critique de son interaction avec *FoxG1*, connu pour son implication dans la balance prolifération -différenciation neuronale. Nos données préliminaires suggèrent un rôle crucial du gène *TLE1* dans le développement du cerveau d'une patiente présentant un syndrome avec des signes très fréquents chez les patients atteints du syndrome FOXG1.
Nous rapportons donc le premier cas de mutation TLE1 dans un syndrome « FOXG1-like » associé à un défaut de prolifération au niveau des fibroblastes, ce qui suggère que le phénotype observé est en lien avec un défaut de prolifération des progéniteurs. Des études supplémentaires sont en cours pour mieux définir l'implication de *TLE1* dans la maladie.

P039 : Anorexie mentale et variants génétiques rares

Auteurs :

julia clarke (1, 2), philip gorwood (1, 3), nicolas ramoz (4)

1. INSERM U894, Centre de Psychiatrie et Neurosciences, Paris, France
2. Psychiatrie de l'enfant et de l'adolescent, Hôpital Robert Debré, Paris, France
3. Clinique des Maladies Mentales et de l'Encéphale, Hôpital Sainte-Anne, Paris, France
4. INSERM U894, Centre de Psychiatrie et Neurosciences, paris, France

Mots clefs : trouble des conduites alimentaires, mutation, œstrogènes, psychiatrie, récepteur, séquençage exons

Résumé :

L'anorexie mentale (AN) est un trouble multifactoriel sévère du comportement alimentaire. L'AN apparaît dès l'adolescence et affecte essentiellement les jeunes femmes. Sa prévalence vie entière est estimée à 0,5%. Il n'y a pas de traitement médicamenteux efficace contre l'AN et seulement un tiers des patients évoluent vers la rémission avec une prise en charge sur plusieurs années. Le taux de mortalité chez les patients et de 10%, essentiellement dû à la dénutrition ou au suicide (taux le plus élevé de tous les troubles psychiatriques). L'AN présente une forte composante génétique avec une héritabilité autour de 0,7 et une forme familiale à transmission dominante. Les gènes codant les récepteurs impliqués dans la faim et la satiété ainsi que la voie œstrogénique sont impliqués dans la régulation de la prise alimentaire et les comportements alimentaires. Plusieurs études génétiques dans l'AN suggèrent des associations génétiques avec des variants de ces gènes.
Dans notre étude, nous recherchons à identifier par séquençage des variants, mutations et de nouveaux polymorphismes (Single Nucleotide Variants SNVs ou polymorphisms SNPs) spécifiquement associés à l'AN dans ces gènes candidats.
Notre méthodologie a été de réaliser le séquençage à haut débit, dans les 2 sens avec une profondeur de lecture x70, des exons caractérisés des gènes des récepteurs à la ghréline (GHSR) et aux œstrogènes ESR1 et ESR2, chez 300 patients AN et 600 contrôles.
Nos résultats de séquençage nous ont permis d'identifier plusieurs SNP et SNV. Leur spécificité et leur impact pathogénique dans l'AN sont en cours de validation, notamment par la caractérisation de mutations de novo et la ségrégation de ces polymorphismes dans nos familles de patientes AN.

P040 : TANC2 : un nouveau gène responsable de troubles neuro développementaux ?

Auteurs :

cindy colson (1), manon godin (2), Mathhieu Decamp (3), arnaud molin (3), joris andrieux (4), herve mitre (5), bernard guillois (6), marion gérard (1), nicolas richard (7)

1. génétique clinique, CHU Caen, caen, France
2. génétique médicale, CHU caen, caen, France
3. cytogénétique, CHU Caen, Caen, France
4. cytogénétique, CHRU Lille, Lille, France
5. génétique moléculaire, CHU Caen, caen, France
6. pédiatrie, CHU caen, caen, France
7. génétique moléculaire, CHU caen, caen, France

Mots clefs : TANC2, toubles neurodéveloppementaux, mosaisisme, délétion, effet dominant négatif

Résumé :

Des études d'exome de larges cohortes de patients avec phénotype caractérisé ont fortement contribué à l'identification de gènes candidats dans les troubles neuro développementaux (TND) et à la caractérisation de nouveaux syndromes avec déficience intellectuelle (DI). Plusieurs de ces gènes codent pour des protéines d'échaffaudage jouant un rôle critique dans la neurotransmission glutamatérgique, organisant la composition post-synaptique des complexes de récepteur glutamate et jouant un rôle clé au niveau des synapses ainsi que sur la plasticité neuronale. Parmi ceux-ci, le gène *TANC2* (Tetratricopeptide repeat-, Ankyrin repeat-, and coiled-coil-containing protein 2, OMIM 615047) est un possible gène candidat de TND avec des variations faux sens identifiées dans le spectre phénotypique des TND à savoir DI isolée, trouble du spectre autistique et schizophrénie. Récemment, l'analyse *in silico* de la famille de protéines TANC a conduit à préciser leurs interactions et à comprendre les conséquences neurobiologiques possibles de leur perturbation. Nous rapportons un frère et une sœur présentant tous les deux un syndrome de Rett atypique et porteurs de la même délétion intragénique de *TANC2*, identifiée par CGHarray, non retrouvées chez les parents asymptomatiques. Par ailleurs, l'étude moléculaire des gènes impliqués dans les encéphalopathies épileptiques est négatives dans la limite des techniques utilisées. Cette observation évoque un mosaïscisme germinal parental et la possible implication de *TANC2* dans le phénotype observé. L'analyse des transcrits dans le sang périphérique chez les deux patients comparés aux parents a permis d'identifier un transcrit mutant emportant les exons 2 à 7 de *TANC2*, avec des études *in silico* indiquant une protéine tronquée de 290 acides aminés sans décalage du cadre de lecture. D'autre part, l'étude d'expression du transcrit TANC2 indique une double expression avec contribution non altérée du transcrit sauvage chez ces 2 patients. Le mécanisme suggéré est une perte de fonction par effet dominant négatif. L'ensemble de ces éléments est en faveur de l'implication du gène *TANC2* dans les TND.

P041 : Les mutations bialléliques du gène MPDZ entrainent une hydrocéphalie congénitale avec malformations épendymaires multiples

Auteurs :

Francois Lecoquierre (1, 2), Pascale Saugier-Veber (1, 2), Florent Marguet (3, 2), Homa Adle-Biassette (4, 5), Fabien Guimiot (6, 5), Sara Cipriani (5), Sophie Patrier (3), Marie Brasseur-Daudruy (7), Alice Goldenberg (1), Valérie Layet (8), Yline Capri (9), Thierry Frébourg (1, 2), Annie Laquerrière (3, 2)

1. Département de Génétique, CHU de Rouen, Centre Normand de Génomique et de Médecine Personnalisée, Rouen, France
2. Inserm U1245, UNIROUEN, Normandie Univ, Rouen, France
3. Service d'Anatomie et Cytologie Pathologiques, CHU de Rouen, Rouen, France
4. Service d'Anatomie et Cytologie Pathologiques, Hôpital Lariboisière, APHP, Paris, France
5. Inserm U1141, Université Paris Diderot, Université Paris Cité, Paris, France
6. Service de Biologie du Développement, Hôpital Lariboisière, APHP, Paris, France
7. Service d'imagerie Pédiatrique et Fœtal, CHU de Rouen, Rouen, France
8. Service de génétique médicale, Groupe Hospitalier du Havre, Le Havre, France
9. Service de Génétique Clinique, Hôpital Robert Debré, APHP, Paris, France

Mots clefs : MPDZ, hydrocéphalie congénitale, épendyme, atrésie de l'aqueduc

Résumé :

Les hydrocéphalies congénitales qui affectent un nouveau-né sur 2000 environ, ont une cause développementale dans près de la moitié des cas. On distingue les hydrocéphalies syndromiques des hydrocéphalies non syndromiques, sans anomalie extra-cérébrale associée. Dans ce dernier groupe, seuls trois gènes ont été impliqués à ce jour, *L1CAM, MPDZ* et *CCDC88C.* Les mutations du gène *L1CAM* qui sont responsables de l'hydrocéphalie avec sténose de l'aqueduc de Sylvius, transmise sur le mode récessif liée à l'X, représentent l'étiologie la plus fréquente. Plus récemment, des mutations bialléliques des gènes *CCDC88C* et *MPDZ* ont été identifiées dans des formes d'hydrocéphalie avec déficience intellectuelle ségrégant selon un mode de transmission autosomique récessif. La nature des lésions et le mécanisme de l'hydrocéphalie restent à préciser.
Nous décrivons 3 nouvelles variations homozygotes tronquantes du gène *MPDZ* chez 5 fœtus appartenant à 3 familles. Après l'identification d'une 1ère variation homozygote par panel NGS hydrocéphalie et analyse du phénotype correspondant, nous avons criblé le gène *MPDZ* dans une série de 10 fœtus présentant une hydrocéphalie avec atrésie de l'aqueduc de Sylvius, conduisant à l'identification de 2 autres variations homozygotes. L'examen neuropathologique de ces 5 fœtus a révélé un phénotype homogène caractérisé par (i) une dilatation des ventricules latéraux avec atrésie des 3ème et 4ème ventricules, (ii) une agénésie de l'organe sous commissural, (iii) des défauts épendymaires avec dénudation et (iv) des lésions péri-épendymaires étagées avec rosettes et amas de cellules ayant un immunophénotype de cellules épendymaires non différenciées (Nestine positives ; GFAP et CD56 négatives).
Le système ventriculaire est tapissé de cellules épendymaires qui dérivent des cellules gliales radiaires. Ces cellules épendymaires sont des cellules polarisées reliées entre elles par des jonctions serrées (tight junctions ; TJ) qui forment une barrière entre le parenchyme et les ventricules. La protéine MPDZ est fortement exprimée dans le cerveau dès le stade embryonnaire, notamment au niveau de l'épendyme et des plexus choroïdes impliqués dans la sécrétion du liquide céphalorachidien. Elle joue un rôle dans la structure des TJ. Plusieurs modèles murins de protéines de jonction intercellulaire présentent une dénudation de l'épendyme. De plus, la souris *Mpdz*$^{-/-}$ présente une dénudation précoce de l'épendyme et une astrogliose responsable de l'obstruction de l'aqueduc de Sylvius. Ainsi, les variations du gène *MPDZ* sont responsables d'un phénotype spécifique, caractérisé par des lésions épendymaires étagées tout le long du système ventriculaire. L'altération des TJ conduit à une désorganisation de l'épendyme avec formation de rosettes, à la dénudation de l'épendyme avec hypoplasie de l'organe sous-commissural et à la présence d'amas de cellules épendymaires non différenciées dans le parenchyme.

P042 : Etude fonctionnelle du CNV 4p16.1 associé à des défauts cranio-faciaux et neuro-anatomiques

Auteurs :

Gaëlle Hayot (1, 2), Camille Bonnet (1, 2), Nicholas Katsanis (2), Christelle Golzio (1, 2)

1. Médecine Translationnelle et Neurogénétique, IGBMC, Illkirch-Graffenstaden, France
2. Center for Human Disease Modeling, Duke University, Durham, Etats-Unis

Mots clefs : variation du nombre de copies, poisson-zèbre, autisme, 4p16.1

Résumé :

Les Variations du Nombre de Copies (copy number variants ou CNVs) sont des lésions fréquentes impliquées, à la fois, dans des maladies rares et complexes. Nous avons précédemment montré que la modélisation de phénotypes anatomiques chez l'embryon de poisson-zèbre permet d'identifier les gènes majeurs responsables des phénotypes associés aux CNVs.
Nous avons réalisé une analyse fonctionnelle des cinq gènes présents dans un CNV sur la bande chromosomique 4p16.1. Grâce à la présence de données cliniques d'individus portant ce CNV dans les bases de données Decipher et AChro-Puce, nous avons déterminé que la délétion est associée à une micrognathie (réduction de la taille de la mâchoire) et à une microcéphalie tandis que la duplication est associée avec une macrocéphalie et des anomalies faciales. Nous avons donc utilisé l'embryon de poisson zèbre comme modèle animal pour déterminer la contribution de chacun de ces gènes au développement de la face et du cerveau.
Afin de modéliser la duplication, nous avons surexprimé chacun des cinq transcrits humains dans des embryons de poisson-zèbre. Nous avons identifié plusieurs gènes majeurs pour les deux phénotypes testés. D'une part, la surexpression de *SLC2A9* ou de *ZNF518B* est suffisante pour provoquer une macrocéphalie mais n'induit pas de défauts cranio-faciaux. D'autre part, la surexpression de *CLNK* et *WDR1* induit une macrognathie et une malformation du cartilage de Meckel respectivement. Nous avons ensuite modélisé la délétion en introduisant des délétions dans les gènes orthologues de *WDR1* et *CLNK* grâce à la technologie CRISPR/Cas9. Nous avons pu exclure le gène *clnk* car seule la suppression de *Wdr1* induit une micrognathie, phénotype attendu d'après les données cliniques des individus porteur de la délétion 4p16.1. Ces données fonctionnelles suggèrent que le gène *WDR1* est impliqué dans les phénotypes cranio-faciaux pour ce CNV. Pour les défauts neuro-anatomiques, des expériences complémentaires sont en cours pour déterminer si la suppression de *SLC2A9* et/ou *ZNF518B* induit une microcéphalie et s'il existe des interactions géniques entre les gènes majeurs, *WDR1*, *SLC2A9* et *ZNF518B*.

P043 : Déficience intellectuelle causée par des mutations de novo des gènes de protéines kinases CAMK2A et CAMK2B

Auteurs :

Sébastien KÜRY (1), Geeske M. VAN WOERDEN (2, 3), Thomas BESNARD (1), Megan T. CHO (4), Stephan SANDERS (5), Holly A. F. STESSMAN (6, 7), Elizabeth A. SELLARS (8), Jonathan BERG (9), Jeff .L. WAUGH (10), Laurie. A. ROBAK (11), Jonathan A. BERNSTEIN (12), Matthew DEARDORFF (13), George E. HOGANSON (14), Diana S. JOHNSON (15), Tabib DABIR (16), Ajoy SARKAR (17), Gaëtan LESCA (18, 19), Paulien A. TERHAL (20), Trine E. PRESCOTT (21), Dorothy K. GRANGE (22), Arie VAN HAERINGEN (23), Martin GRANZOW (24), Nienke E. VERBEEK (20), Wen-Hann TAN (25), Ute MOOG (26), Christina LAM (27), Ghayda MIRZAA (28, 29), Katherine L. HELBIG (30, 31), Jill A. ROSENFELD (11), Pankaj B. AGRAWAL (25), - CAMK2A/B Consortium (32), Sylvie ODENT (33, 34), Ype ELGERSMA (2, 3), Stéphane BEZIEAU (1), Sandra MERCIER (1)

1. Génétique Médicale, CHU de Nantes, Nantes, France
2. Department of Neuroscience, Erasmus University Medical Center, Rotterdam, Pays-Bas
3. ENCORE Expertise Center for Neurodevelopmental Disorders, Erasmus University Medical Center, Rotterdam, Pays-Bas
4. -, GeneDx, Gaithersburg, Etats-Unis
5. Department of Psychiatry, UCSF Weill Institute for Neurosciences, University of California, San Francisco,, Etats-Unis
6. Department of Genome Sciences, University of Washington School of Medicine, Washington, Etats-Unis
7. Department of Pharmacology, Creighton University Medical School, Omaha, Etats-Unis
8. Section of Genetics and Metabolism, Arkansas Children's Hospital, Little Rock, Etats-Unis
9. Department of Clinical Genetics, Ninewells Hospital and Medical School, University of Dundee, Dundee, Royaume Uni
10. Department of Neurology, Boston Children's Hospital and Harvard Medical School, Boston, Etats-Unis
11. Department of Molecular and Human Genetics, Baylor College of Medicine, Houston, Etats-Unis
12. Department of Pediatrics, Stanford University School of Medicine, Stanford, Etats-Unis
13. Department of Pediatrics, Division of Genetics, Children's Hospital of Philadelphia, Philadelphia, Etats-Unis
14. Department of Pediatrics, University of Illinois at Chicago, College of Medicine, Chicago, Chicago, Etats-Unis
15. -, Sheffield Children's Hospital, Sheffield, Royaume Uni
16. Northern Ireland Regional Genetics Centre, Belfast Health and Social Care Trust, Belfast City Hospital, Belfast, Royaume Uni
17. Nottingham Regional Genetics Service, Nottingham University Hospitals NHS Trust, Nottingham, Royaume Uni
18. Service de génétique, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
19. INSERM U1028, CNRS UMR5292, Centre de Recherche en Neurosciences de Lyon, Lyon, France
20. Department of Genetics, University Medical Center Utrecht, Utrecht, Pays-Bas
21. Department of Medical Genetics, Telemark Hospital Trust, Skien, Norvège
22. Department of Pediatrics, Washington University School of Medicine, Saint Louis, Etats-Unis
23. Department of Clinical Genetics, Leiden University Medical Center, Leiden, Pays-Bas
24. Institute of Human Genetics, University Heidelberg, Heidelberg, Allemagne
25. Division of Genetics and Genomics, Boston Children's Hospital and Harvard Medical School, Boston, Etats-Unis
26. Institute of Human Genetics, University Heidelberg, Heidelberg, Allemagne
27. Department of Pediatrics, University of Washington School of Medicine and Seattle Children's Hospital, Seattle, Etats-Unis
28. Department of Pediatrics, Division of Genetics, University of Washington School of Medicine and Seattle Children's Hospital, Seattle, Etats-Unis
29. Center for Integrative Brain Research, Seattle Children's Research Institute, Seattle, Etats-Unis
30. Division of Clinical Genomics, Ambry Genetics, Aliso Viejo, Etats-Unis
31. Division of Neurology, The Children's Hospital of Philadelphia, Philadelphia, Etats-Unis
32. -, -, Nantes, France
33. Service de Génétique Clinique, CHU de Rennes, Rennes, France
34. CNRS UMR6290, Université Rennes1, Rennes, France

Mots clefs : déficience intellectualle ; plasticité synaptique ; CAMK2; CAMK2A; CAMK2B; mutations de novo ; NMDAR; AMPAR

Résumé :

Les isoformes alpha et beta de la protéine kinase II calcium-calmoduline dépendante (CAMK2) jouent un rôle clé dans la fonction neuronale. Bien que CAMK2 ait été l'une des premières protéines dont la fonction essentielle à l'apprentissage normal et à la plasticité synaptique a été révélée chez la souris, son importance dans le développement du cerveau humain n'a pas encore été bien démontrée. Grâce à une étude collaborative multicentrique basée sur le séquençage d'exomes complets, nous avons identifié 19 variants *de novo CAMK2A* et *CAMK2B* rarissimes chez 24 individus non apparentés ayant une déficience intellectuelle. En évaluant l'effet de ces variants sur la fonction kinase de CAMK2 et sur la migration neuronale, nous avons

montré qu'ils diminuaient ou augmentaient le phénomène d'auto-phosphorylation du site Thr286/Thr287 de CAMK2. Nous avons également constaté que toutes les mutations affectant l'auto-phosphorylation perturbaient également la migration neuronale, soulignant par là même l'importance de l'auto-phosphorylation finement régulée de CAMK2 dans la fonction neuronale et le développement neurologique. Nos données établissent l'importance de CAMK2A et CAMK2B et de leur auto-phosphorylation dans la fonction cérébrale humaine. Elles élargissent le spectre phénotypique des troubles causés par des variants d'acteurs principaux de la voie de signalisation glutamatergique.

P044 : Etude d'une cohorte de 18 fœtus microcéphales : identification d'un nouveau gène candidat, FAF1.

Auteurs :

Eudeline ALIX (1), Jessica MICHEL (1), Flavie DIGUET (2), RITA MENASSA (3), Muriel FABRIES (4), Pierre-Antoine ROLLAT-FARNIER (5), Annie BUENERD (6), Nicolas CHATRON (7), Audrey LABALME (2), Marianne TILL (2), Caroline SCHLUTH-BOLARD (8), Catherine FALLET-BIANCO (9), Jelena MARTINOVIC-BOURIEL (10), Damien SANLAVILLE (8)

1. Service de Génétique, Laboratoire de Cytogénétique Constitutionnelle, CBPE, , Hospices Civils de Lyon, LYON, France
2. Service de Génétique, Laboratoire de Cytogénétique Constitutionnelle, CBPE, , Hospices Civils de Lyon, BRON, France
3. Unité Médicale Pathologies Endocriniennes, Rénales, Musculaires et Mucoviscidose, Service de Biochimie-Biologie Moléculaire Grand Est, GHE, Hospices Civils de Lyon, BRON, France
4. Unité Médicale Pathologies Endocriniennes, Rénales, Musculaires et Mucoviscidose, Service de Biochimie-Biologie Moléculaire Grand Est, GHE, Hospices Civils de Lyon, bron, France
5. Service de biostatistique – bioinformatique et plateforme NGS, , HCL, Lyon, France
6. Centre de Pathologie Est, GHE, Hospices Civils de Lyon, BRON, France
7. Service de Génétique, Laboratoire de Cytogénétique Constitutionnelle, CBPE, Hospices Civils de Lyon, , Centre de Recherche en Neurosciences de Lyon, INSERM U1028 ; CNRS UMR5292 ; UCBL1 ; GENDEV Team , LYON, France
8. Service de Génétique, Laboratoire de Cytogénétique Constitutionnelle, CBPE, Hospices Civils de Lyon, , Centre de Recherche en Neurosciences de Lyon, INSERM U1028 ; CNRS UMR5292 ; UCBL1 ; GENDEV Team , BRON, France
9. Departement de Pathologie, Unité de Neuropathologie, , CHU Sainte-Justine, MONTREAL, Canada
10. Unité de Foetopathologie, Laboratoire Cerba, , Hôpital Antoine Béclère, Cergy , PARIS, France

Mots clefs : FAF1, microcéphalie, ACPA, foetus

Résumé :

Les malformations congénitales touchent environ 2.5% des naissances vivantes. Parmi celles-ci, la microcéphalie est la 3ème anomalie cérébrale congénitale la plus fréquente. Les étiologies génétiques des microcéphalies sont de plus en plus décrites aussi bien au niveau moléculaire (SNV) que cytogénétique (CNV).
Dans le cadre d'un PHRC national sur l'étude par ACPA de fœtus porteur d'une malformation cérébrale dans un cadre syndromique, nous avons identifié un fœtus présentant une duplication 1p32.2 de 494 kb tronquant l'extrémité C-terminale du gène *FAF1* et incluant le gène *CDKN2C*. L'examen neuro-foeto-pathologique de ce fœtus interrompu à 27 semaines d'aménorrhée a identifié une microcéphalie avec retard de la giration, des anomalies des circonvolutions hippocampiques, une agénésie du corps calleux et une dysmorphie faciale.
Le gène *CDKN2C* code pour un inhibiteur des kinases cyclines-dépendantes p18-INK4C. L'expression de cette protéine dans le cortex cérébral fœtal n'est pas spécifiquement rapportée. En revanche, la protéine FAF1 est un enhancer de l'apoptose indispensable au développement embryonnaire et dont une expression forte et précoce a été démontrée au cours du développement des hémisphères télencéphaliques chez la souris. Nous avons émis l'hypothèse que la duplication partielle du gène *FAF1* chez le fœtus aboutissait à l'expression d'une protéine FAF1 plus courte responsable de l'apparition d'une microcéphalie par augmentation de la stimulation de l'apoptose au niveau de la zone périventriculaire du cortex cérébral en développement.
Nous avons pu montrer pour ce foetus : i) la position des points de cassure au nucléotide près par une approche de Whole Genome Sequencing ii) une augmentation, dans le thymus par RT-qPCR, de l'expression de la partie N-terminale de l'ARNm du fœtus en comparaison aux foetus contrôles et en comparaison de l'expression de l'extrémité C-terminale chez le fœtus et les contrôles et, iii) la présence par western-blot d'une protéine FAF1 de plus petit poids moléculaire (61kDa au lieu de 74 kDa) dont l'extrémité C-terminale normale est absente. Cette étude a été complétée par l'analyse par immunohistochimie de l'expression de la protéine FAF1 normale au cours du développement cérébral. Afin de comprendre le mécanisme permettant au gène *FAF1* tronqué dans la région 3' de conserver les séquences nucléotidiques nécessaires aux mécanismes de transcription et de traduction, nous avons réalisé une analyse *in silico* de l'extrémité 3' du gène tronqué ainsi que le séquençage Sanger de l'extrémité 3' de l'ARNm.
Cette étude permet d'une part de s'intéresser à un mécanisme génétique peu étudié de pathogénicité à savoir les duplications tronquantes d'un gène et d'autre part d'étudier l'expression d'un très probable nouveau gène responsable de microcéphalie. L'analyse d'une cohorte de fœtus ou de patients microcéphales à la recherche de duplication ou de variant gain de fonction du gène *FAF1* permettrait de valider ce travail.

P045 : Caractérisation clinique et moléculaire d'une cohorte de 77 patients présentant une encéphalopathie épileptique précoce avec « burst-suppression »

Auteurs :

Florence Riccardi (1, 2), Pierre Cacciagli (1, 2), Caroline Lacoste (3), Cécile Ravix (4), Majdi Nagara (5), Alexandra Afenjar (6), Cécilia Altuzarra (7), Stéphane Auvin (8), Magalie Barth (9), Sébastien Cabasson (10), Claude Cances (11), Pierre Castelnau (12), Maryline Carneiro (13), Emmanuel Cheuret (11), Estelle Colin (9), Benjamin Cogne (14), Florence Demurger (15), Vincent Des Portes (16), Anne Dieux-Coeslier (17), Diane Doummar (6), Fabienne Giuliano (18), Alice Goldenberg (19), Jamal Ghoumid (17), Anne-Marie Guerrot (19), Damien Haye (20), Bertrand Isidor (14), Sophie Julia (21), Emmanuelle Lagrue (22), Anne-Sophie Lebre (23), Jérémie Lefranc (24), Anne Lepine (25), Gaëtan Lesca (26), Hélène Maurey (27), Julia Metreau (27), Cyril Mignot (20), Sophie Naudion (28), Jean-Claude Netter (29), Laurent Pasquier (15), Jean-Michel Pedespan (30), Julie Perrier (31), Anne-Lise Poulat (16), Chloé Quelin (15), Christian Richelme (32), Agathe Roubertie (33), Elise Schaefer (34), Annick Toutain (35), Nathalie Villeneuve (25), Laurent Villard (1, 2), Mathieu Milh (36, 1)

1. UMR_S 910, INSERM, Faculté de Médecine La Timone, Université Aix-Marseille, Marseille, France
2. Service de Génétique Médicale, Hôpital La Timone, CHU de Marseille, Marseille, France
3. Service de Génétique Médicale, Hôpital La Timone, CHU de Marseille , Marseille , France
4. UMR_S 910, Faculté de Médecine La Timone, INSERM, Université Aix-Marseille , Marseille , France
5. UMR_S 910, Faculté de Médecine La Timone, INSERM, Université Aix-Marseille, Marseille, France
6. Service de Neuropédiatrie et Génétique, Hôpital d'Enfants Armand-Trousseau, CHU de Paris, Paris, France
7. Service de Pédiatrie, Hôpital Jean Minjoz, CHRU de Besançon, Besancon, France
8. Service de Neuropédiatrie, Hôpital Robert-Debré, CHU de Paris, Paris, France
9. Service de Génétique Médicale, CHU d'Angers, Angers, France
10. Service de Neuropédiatrie, CH de Pau, Pau, France
11. Service de Neuropédiatrie, Hôpital des Enfants, CHU de Toulouse, Toulouse, France
12. Service de Neuropédiatrie, Hôpital Clocheville, CHRU de Tours, Tours, France
13. Service de Neuropédiatrie, Hôpital Femme Mère Enfant, CHU de Lyon , Lyon, France
14. Service de Génétique Médicale, Hôtel Dieu, CHU de Nantes, Nantes, France
15. Service de Génétique Clinique, Hôpital Sud, CHU de Rennes, Rennes, France
16. Service de Neuropédiatrie, Hôpital Femme Mère Enfant, Bron, CHU de Lyon , Lyon, France
17. Service de Génétique, Hôpital Jeanne de Flandre, CHRU de Lille, Lille, France
18. Service de Génétique Médicale, UCA, Centre Hospitalier Universitaire de Nice, Nice, France
19. Département de Génétique, CHU de Rouen, Centre Normand de Génomique et de Médecine Personnalisée, Rouen, France
20. APHP, Département de Génétique, GH Pitié-Salpêtrière, Paris, France
21. Service de Génétique Médicale, Hôpital Purpan, CHU de Toulouse, Toulouse, France
22. Service de Neuropédiatrie, Hôpital Clocheville, CHRU de Tours, Tours, France
23. Service de Génétique et Biologie de la Reproduction, Hôpital Maison Blanche, CHU de Reims, Reims, France
24. Service de Neuropédiatrie, Hôpital Morvan, CHU de Brest, Brest, France
25. Service de Neuropédiatrie, Hôpital La Timone, CHU de Marseille, Marseille, France
26. Service de Génétique Moléculaire et Médicale, GH Edouard Herriot, CHU de Lyon, Lyon, France
27. Service de Neuropédiatrie, Hôpital Bicêtre, CHU de Paris , Paris, France
28. Service de Génétique Médicale, GH Pellegrin, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France
29. Service de Pédiatrie, CH de Bigorre, Tarbes, France
30. Service de Neuropédiatrie, GH Pellegrin, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France
31. Service de Pédiatrie, Hôpital femme-enfant-adolescent, CHU de Nantes, Nantes, France
32. Service Neuropédiatrie, Hôpital l'Archet 2, CHU de Nice, Nice, France
33. Service de Neuropédiatrie, Hôpital Gui de Chauliac, CHRU Montpellier, Montpellier, France
34. Service de Génétique Médicale, Hôpital de Hautepierre, CHU de Strasbourg, Strasbourg, France
35. Service de Génétique, Hôpital Bretonneau, CHRU de Tours, Tours, France
36. Service de Neurologie Pédiatrique , Hôpital La Timone, CHU de Marseille, Marseille, France

Mots clefs : Epilepsie, Encéphalopathies Epileptiques Précoces, « burst–suppression », Syndrome d'Ohtahara, Encéphalopathie Myoclonique Précoce

Résumé :

Les encéphalopathies épileptiques précoces (EEP) sont des pathologies rares et sévères du neuro-développement. Elles sont caractérisées par la survenue de crises motrices dans les premiers mois de vie et par un EEG anormal. L'EEG « burst-suppression » est défini par une alternance de bouffées d'onde rapide et de périodes de dépression majeure de l'activité cérébrale. Il est caractéristique et facilement reconnaissable par l'ensemble des cliniciens. Historiquement, le syndrome

d'Ohtahara et l'Encéphalopathie Myoclonique Précoce ont été décrits comme deux entités cliniques distinctes. L'objectif de cette étude est de décrire les gènes responsables d'EEP avec « burst-suppression » et de corréler le génotype au phénotype des patients. Dans le cadre du diagnostic et de la recherche, les données clinique et génétique de 400 patients atteints d'EEP ont été collectées. Les patients inclus dans cette cohorte présentent tous un début des crises d'épilepsie avant l'âge de 3 mois et un décalage des acquisitions psychomotrices. L'imagerie cérébrale (IRM) et le bilan métabolique n'ont pas mis en évidence d'anomalie spécifique. Nous avons sélectionné 77 patients présentant un EEG « burst-suppression». Les explorations génétiques ont été réalisées dans le laboratoire de diagnostic (pour les anomalies génétiques connues) puis au sein du laboratoire de recherche. Une analyse d'exomes en trio a été réalisée pour 17 patients. Les données cliniques et moléculaires ont été discutées avec un neuropédiatre. Nous avons identifié des variations pathogènes chez 49 patients (63.6%). La majorité des variations sont de type faux-sens et *de novo*. Notre étude souligne l'implication de 2 gènes *KCNQ2* et *STXBP1*, qui sont les plus fréquemment mutés (respectivement 26% et 14%). Six gènes, déjà connus dans les EEP, sont pour la première fois associés à un EEG « burst-suppression » : *SCN1A, GABRB3, GNAO1, GABRG2, ALG11* et *PIGO*. De nouvelles variations prédites pathogènes dans des gènes récemment décrits (*GABRB3* et *UBA5*) et dans des gènes candidats ont été identifiées. Alors que le tableau clinique initial (dans les 3 premiers mois de vie) est homogène, nous avons observé une importante hétérogénéité concernant le devenir des patients, allant du décès précoce à la déficience intellectuelle modérée. Ce travail présente la répartition et la diversité des anomalies génétiques impliquées dans les EEP avec «burst-suppression ». Chaque variation pathogène semble être à l'origine d'un tableau clinique unique. La réalisation d'études fonctionnelles est indispensable pour l'interprétation des variations faux-sens et pour comprendre leur rôle dans la genèse de l'épilepsie. L'identification d'un diagnostic moléculaire constitue une étape clef pour améliorer notre compréhension de l'épilepsie et envisager le développement de thérapies ciblées.

P046 : Les mutations dominantes de RORA sont responsables d'un déficit intellectuel associé à une épilepsie, des troubles du spectre autistique et/ou une ataxie cérébelleuse.

Auteurs :

Claire Guissart (1), Xenia Latypova (2, 3), Paul Rollier (4), Tahir N Khan (3), Hannah Stamberger (5, 6), Kirsty McWalter (7), Megan Cho (7), Susanne Kjaergaard (8), Sarah Weckhuysen (5, 6), Gaetan Lesca (9, 10), Katrin Õunap (11, 12), Lynn Schema (13), Andreas G Chiocchetti (14), Peter De Jonghe (5, 6), Shannon Sattler (15), Isabelle Thiffault (16), Christine Freitag (14), Christèle Dubourg (17), Wilfrid Carré (18), Monica H Wojcik (19), François Rivier (20), Nicolas Leboucq (21), Souphatta Sasorith (22), Sylvie Odent (23, 24), Nicholas Katsanis (3), Stéphane Bézieau (2), Michel Koenig (25), Erica E Davis (3), Laurent Pasquier (4, 24), Sébastien Küry (2)

1. EA7402, Institut Universitaire de Recherche Clinique, CHU Montpellier, Montpellier, France
2. Service de Génétique Médicale, CHU Nantes, Nantes, France
3. Center for Human Disease Modeling, Duke University Medical Center, Durham, Etats-Unis
4. Service de Génétique Clinique, CHU Rennes, Rennes, France
5. Neurogenetics Group, Department of Molecular Genetics, VIB, Antwerp, Belgique
6. Laboratory of Neurogenetics, Institute Born-Bunge, University of Antwerp, Antwerp, Belgique
7. GeneDx, GeneDx, Gaithersburg, Etats-Unis
8. Chromosome Laboratory, Department of Clinical Genetics, University Hospital, Rigshospitalet, Copenhagen, Danemark
9. Département de Génétique, CHU Lyon, Lyon, France
10. Centre de Recherche en Neuroscience Lyon, CNRS UMR5292, INSERM U1028, Université Claude Bernard Lyon I, Lyon, France
11. Department of Clinical Genetics, United Laboratories, Tartu University Hospital, Tartu, Estonie
12. Department of Clinical Genetics, Institute of Clinical Medicine, University of Tartu, Tartu, Estonie
13. Medical Center, University of Minnesota, Fairview, Etats-Unis
14. Department of Child and Adolescent Psychiatry, Psychosomatics and Psychotherapy, JW Goethe University Frankfurt, Frankfurt, Allemagne
15. Carle Foundation, Hospital in Urbana, Illinois, Etats-Unis
16. Center for Pediatric Genomic Medicine, Children's Mercy Kansas City, Kansas City, Missouri, Etats-Unis
17. Laboratoire de génétique moléculaire, , Hôpital Pontchaillou, CHU Rennes, Rennes, France
18. Laboratoire de génétique moléculaire,, Hôpital Pontchaillou, CHU Rennes, Rennes, France
19. Medical & Population Genetics, Broad Institute, Cambridge, Etats-Unis
20. Département de Neuropédiatrie, CHU Montpellier, Montpellier, France
21. Département de Neuroradiologie, CHU Montpellier, Montpellier, France
22. EA7402 Institut Universitaire de Recherche Clinique, et Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU Montpellier, Montpellier, France
23. Service de Génétique Clinique, CLAD Ouest, CHU Rennes, Rennes, France
24. CNRS UMR 6290, Université de Rennes, Rennes, France
25. Equipe d'Accueil EA7402, Institut Universitaire de Recherche Clinique, Université de Montpellier, CHU Montpellier, Montpellier, France

Mots clefs : RORA, identification gène, poisson zèbre, déficience intellectuelle, épilepsie, autisme, ataxie cérébelleuse

Résumé :

Le récepteur nucléaire ROR-alpha est une protéine essentielle pour le développement du cervelet. Bien que le modèle murin *staggerer*, correspondant à une délétion spontanée intragénique du gène orthologue *Rora* soit connu depuis deux décennies pour son phénotype cérébelleux, l'effet des mutations de *RORA* chez l'homme est resté inconnu jusqu'à ce jour.
Grâce à une collaboration internationale, nous avons identifié une série de 14 patients issus de 11 familles non apparentées présentant des mutations de *RORA* dont 3 délétions (deux *de novo*, une dominante), une duplication *de novo* et 7 mutations ponctuelles *de novo* (3 tronquantes et 4 faux-sens). Les patients sont atteints d'un syndrome associant un déficit intellectuel (13/14), une épilepsie (10/14), des troubles du spectre autistique (4/14) et une ataxie (4/14). Les signes cliniques observés chez les individus avec les mutations tronquantes sont cohérents avec les phénotypes précédemment décrits associés à une microdélétion sur le chromosome 15q22.2, pour lesquels la région minimale de chevauchement comprend *RORA* et le gène du récepteur NMDA de type 2 (*NARG2*).
Quatre des cinq patients avec les mutations altérant le domaine de liaison au ligand présentent des troubles du comportement (hyperactivité ou autisme) tandis que les deux patients avec les variants faux-sens altérant le domaine de liaison à l'ADN de ROR-alpha présentent une ataxie et une atrophie cérébelleuse. Nos résultats suggèrent que les mutations faux-sens du domaine de liaison à l'ADN ont un effet dominant négatif en empêchant l'accès de la protéine sauvage ROR-alpha à ses sites cibles naturels, conduisant ainsi à un phénotype comparable au modèle homozygote *staggerer*. Nous avons invalidé le gène *Rora* du poisson zèbre *D. rerio* et montrons que ceci induit une hypoplasie sévère du cervelet, confirmant ainsi le rôle essentiel

de *RORA* dans le développement du système nerveux des vertébrés. Nous confirmons également dans ce modèle *in vivo* que les faux-sens du domaine de liaison à l'ADN ont un effet dominant négatif ou gain de fonction.
En conclusion, notre étude démontre que les mutations de *RORA* chez l'homme sont responsables d'une cause fréquente de déficience intellectuelle associée à des signes neurologiques d'expression variable incluant une épilepsie, des troubles du spectre autistique et/ou des troubles cérébelleux.

P047 : Détection de 3 variants structuraux du gène NIPBL par analyse des reads chimériques après séquençage NGS d'un panel Cornelia de Lange

Auteurs :

Sophie Coutant (1, 2), Alice Goldenberg (2), Kevin Cassinari (2), François Lecoquierre (2), Gabriella Vera (2), Nathalie Drouot (2), Françoise Charbonnier (1, 2), Myriam Vezain (1, 2), Isabelle Tournier (1), Raphaël Lanos (1), Olivier Quenez (1), Gaël Nicolas (1, 2), Anne-Marie Guerrot (2), Salima El Chehadeh (3), Françoise Girard (4), Juliette Piard (5), Christelle Cabrol (5), Thierry Frébourg (1, 2), Pascale Saugier-Veber (1, 2)

1. Inserm U1245, UNIROUEN, Normandie Univ, Centre Normand de Génomique et de Médecine Personnalisée, Rouen, France
2. Département de Génétique, CHU de Rouen, Centre Normand de Génomique et de Médecine Personnalisée, Rouen, France
3. Service de Génétique Médicale, CHU de Strasbourg, Strasbourg, France
4. Laboratoire de Cytogénétique, CHU de Strasbourg, Strasbourg, France
5. Service de Génétique Médicale, CHU de Besançon, Besançon, France

Mots clefs : variants structuraux, Cornelia de Lange, reads chimériques, NIPBL, points de cassure

Résumé :

Le syndrome de Cornelia de Lange (CdLS) est une déficience intellectuelle syndromique cliniquement caractéristique qui résulte d'altérations dans cinq gènes, *NIPBL*, *SMC1A*, *SMC3*, *RAD21* et *HDAC8*. Les réarrangements de grande taille sont retrouvés chez moins de 5% des patients atteints de CdLS. Les reads chimériques (ou Split Read, SR) correspondent à des reads pour lesquels chacune des deux extrémités présente une séquence s'alignant sur deux zones du génome distantes l'une de l'autre. Ces reads signent l'existence de variants structuraux (SVs), qu'il s'agisse de délétions, de duplications, d'insertions ou d'inversions.
Nous rapportons l'identification, grâce à l'analyse des reads chimériques effectuée après séquençage haut débit (NGS) d'un panel de gènes (capture SureSelect QXT des régions exoniques et introniques puis séquençage Illumina sur MiSeq ou NextSeq), de 3 SVs chez des patients atteints de CdLS. Le premier cas est celui d'un CdLS typique chez un fœtus. Dans un premier temps, le séquençage NGS de ce panel n'a pas permis d'identifier de variant pathogène. L'analyse des reads chimériques a conduit à l'identification d'une délétion s'étendant de l'intron 6 du gène *NIPBL* à l'exon 52 du gène adjacent, le gène *C5orf42*. Les points de cassure suggérés par l'analyse des SR ont été confirmés par PCR suivie d'un séquençage Sanger. Dans le second cas de CdLS, l'outil CANOES a détecté initialement une délétion de l'exon 11 du gène *NIPBL*. Cependant, les bornes de la délétion identifiée par l'outil CANOES ne correspondant pas parfaitement aux bornes de la délétion confirmée par QMPSF, nous avons poursuivi les investigations par l'analyse des reads chimériques. Nous avons alors mis en évidence un réarrangement complexe avec non seulement une délétion des exons 11 et 12 mais également une seconde délétion des exons 13 à 17, une insertion de 10 pb et une inversion de l'exon 12. Malgré la présentation clinique typique, aucun SNV ni CNV n'avait pu être détecté dans le troisième cas de CdLS. C'est l'analyse systématique des reads chimériques qui a permis de détecter une délétion partielle de l'exon 9 du gène *NIPBL*. Cette délétion de 444 pb a été confirmée par PCR Sanger autorisant la réalisation d'un diagnostic prénatal.
Si l'analyse des reads chimériques sur les données de séquençage de génome entier s'est généralisée, en revanche, elle n'est pas courante sur les données de séquençage NGS de petits panels. La fréquence des SVs détectés sur petits panels NGS nous incite à déployer systématiquement une analyse des reads chimériques. La stratégie de capture incluant les introns des gènes majeurs impliqués dans ces pathologies conditionne la détection et la caractérisation de ces SVs. Dans ces conditions, le panel présente une supériorité notable sur l'exome : la meilleure couverture et la meilleure profondeur de couverture améliorent la détection des variations ponctuelles, des CNV et des SV et ainsi augmentent le rendement diagnostique.

P048 : Etude clinique et moléculaire de 4 familles Algériennes avec microcéphalie autosomique récessive

Auteurs :

Abdelkrim SAADI (1), Guntram BORCK (2), saadia LOUGANI (1), Belaid AIT ABDELKADER (3), Laurence COLLEAUX (4), Myriam ABADA-BENDIB (1)

1. neurologie, etablissement hospitalier specialise de Ben-aknoun, Alger, Algérie
2. ,, Institute of Human Genetics,University of Ulm, ulm, Allemagne
3. laboratoire de cytogenetique , Centre Pierre Marie Curie, Alger, Algérie
4. université Paris-Descartes-Sorbonne Paris cité ,Institut imagine, hopital Necker enfants malades , Paris, France

Mots clefs : Microcéphalie autosomique récessive,Hétérogèneite clinique et génétique ,ASPM ,WDR62 ,CASC5

Résumé :

La microcéphalie primaire autosomique récessive (MCPH- MIM 251200) précédemment appelée "microcephalia vera" est un trouble du développement neurologique d'origine génétique hétérogène rare caractérisé par une réduction congénitale du périmètre cranien inférieur à 2 déviations standards à la naissance ,un déficit intellectuel non progressif de gravité variable sans troubles neurologiques significatifs. Des études récentes ont permis d'identifier une douzaine de locus (MCPH 1-12) et d'élargir le phénotype clinique. La majorité des patients MCPH ont une structure cérébrale normale mais parfois l'IRM montre un motif gyral simplifié et des anomalies de la migration neuronale.
Nous rapportons l'étude clinique et génétique de 17 patients appartenant à 4 familles consanguines présentant une microcéphalie congénitale (PC entre -2 et - 6DS),un déficit intellectuel de gravité variable de léger à sévére,une petite taille chez 7 patients ,des crises d'épilepsie chez 5 patients,paraparésie et hyperreflexie (4 patients),des signes dysmorphiques non spécifiques et des troubles du comportement avec agressivité ,hyperactivité et stéréotypies .Les anomalies à l'IRM cérébrale à type de simplification diffuse du gyrus cortical,pachygyrie et hypoplasie cérébelleuse ont été observés chez 7 patients.
La cartographie par autozygotie et le séquençage à haut débit ont permis l'identification de 3 mutations homozygotes des gènes CASC5 (c.6123G > A;p.Met2041Ile) ,WDR62 (c.1901T > C;p.Met634Thr) , (c.2908C > T;p.Q970*) et 2 mutations hétérozygotes composites du gène ASPM (c.2389C > T;p.Arg 797X) , (c.7781_7782delAG;Gln2594fsX6).
Les MCPH sont cliniquement et génétiquement hétérogènes avec 12 gènes identifiés dans différentes populations ethniques. Le phénotype associe la microcéphalie et la déficience intellectuelle à d'autres signes tels que : paraparésie spastique ,crise d'épilepsie, petite taille ,dysmorphie faciale ,cataracte,surdité. Il convient de noter que les mutations dans les gènes ASPM et WDR62 sont responsables de 55% - 60% des cas de MCPH.Les anomalies de la migration neuronale sont souvent associées à des mutations du gène WDR62. Alors que CASC5 est l'un des gènes les plus récemment décrit chez seulement 11 patients appartenant à 4 familles maghrébines.

P049 : Syndrome de Lamb-Shaffer : premier cas par duplication intra-génique du gène SOX5

Auteurs :

Noémie CELTON (1), Charlotte FLORIN (1), Marlène GALLET (1), Gilles MORIN (2), Florence JOBIC (2), Henri COPIN (1), Michèle MATHIEU-DRAMARD (2), Guillaume JEDRASZAK (1)

1. Laboratoire de Cytogénétique, CHU Amiens, AMIENS, France
2. Service de Génétique Clinique, CHU Amiens, AMIENS, France

Mots clefs : SOX5, Lamb-Shaffer, ACPA, déficience intellectuelle

Résumé :

Le syndrome de Lamb-Shaffer (OMIM 616803) est une maladie génétique rare, récemment décrite (2012), de transmission autosomique dominante, ayant pour conséquence une déficience intellectuelle syndromique. Il apparait secondairement à des mutations perte de fonction du gène SOX5, aboutissant à une haplo-insuffisance (délétions, mutations non-sens). Le gène *SOX5* appartient aux gènes de la famille SOX (SRY-related HMG-box) qui codent pour des facteurs de transcription essentiels dans le développement du système nerveux. Ils sont également impliqués dans la différenciation et la migration des oligodendrocytes, la croissance cartilagineuse et osseuse.
Nous rapportons le cas d'une patiente de 16 ans, cadette d'une fratrie de trois (un frère et une sœur en bonne santé), présentant une déficience intellectuelle syndromique. Elle est née eutrophe à 39 SA après une grossesse sans particularités. A l'âge de 4 ans, elle a consulté en génétique pour retard sévère des acquisitions psychomotrices et du langage (marche acquise à 27 mois, quelques mots seulement à 4 ans). L'examen clinique notait une myopie et un strabisme, une arachnodactylie, des pieds plats et une dysmorphie faciale associant un nez bulbeux, une columelle basse, un philtrum court, un prognathisme et des dents chevauchantes. L'IRM cérébrale réalisée à 4 ans montrait un retard de myélinisation sans malformation associée. Par la suite, l'évolution était marquée par la persistance d'un retard important des acquisitions (absence de langage à 16 ans), l'apparition de troubles du spectre autistique et d'une épilepsie. L'ACPA (lame 180K - Agilent Technologies) mettait en évidence une duplication 12p12.1 hétérozygote de 162 kb, comprenant les exons 4 à 8 du gène *SOX5*. Une analyse en QFM-PCR permettait de confirmer l'implication de ces exons et l'absence d'anomalies des exons adjacents. L'enquête familiale éliminait la présence de cette duplication dans la fratrie et chez la mère, le père n'ayant malheureusement pas pu être testé.
A ce jour, seulement une dizaine de patients présentant un syndrome de Lamb-Shaffer ont été rapportés dans la littérature. Ils présentent un phénotype comparable à notre patiente, avec l'association d'un retard psychomoteur, d'une déficience intellectuelle, d'une dysmorphie faciale, et de façon plus variable des anomalies oculaires, squelettiques et des troubles du spectre autistique. La duplication intra-génique mise en évidence ici, avec des points de cassure localisés dans les régions introniques, pourrait être un équivalent de mutation perte de fonction par modification de la structure de la protéine secondaire à la présence d'exons surnuméraires. Ce résultat est à la fois un argument en faveur de la pathogénicité de cette duplication et une confirmation de la récurrence du phénotype en cas d'anomalie du gène *SOX5*. Il s'agit du premier cas rapporté de duplication intra-génique du gène *SOX5* responsable du syndrome de Lamb-Shaffer.

P050 : Déficience intellectuelle et système ubiquitine-protéasome : l'exemple de CUL4B

Auteurs :

Thomas Besnard (1), Frédéric Ebstein (2), Mathilde Lefebvre (3, 4), Benjamin Cogné (1), Delphine Quinquis (1), Sophie Nambot (3, 4), Maja Hempel (5), Davor Lessel (5), Dong Li (6), Frédéric Tran Mau-Them (3, 4), Karen W. Gripp (7), Elena Infante (8), Marianne McGuire (8, 9), Thomas Smol (10, 11), Jamal Ghoumid (10, 12), Timothy Maarup (13), Elise Calonico (13), LaDonna Immken (14), Dominique Martin-Coignard (15), Christel Thauvin (3, 4), Laurence Faivre (3, 4), Bertrand Isidor (1), Stéphane Bézieau (1), Sébastien Küry (1)

1. Service de Génétique médicale, CHU Nantes, Nantes, France
2. Institute of Medical Biochemistry and Molecular Biology, University Medicine Greifswald, Greifswald, Allemagne
3. Inserm UMR 1231 GAD, Génétique des Anomalies du Développement, CHU Dijon, Dijon, France
4. Centre de référence «Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs», Centre de Génétique, Hôpital d'Enfants, CHU Dijon, Dijon, France
5. Institute of Human Genetics, University Medical Center Hamburg-Eppendorf, Hamburg, Allemagne
6. Center for Applied Genomics, The Children's Hospital of Philadelphia, Philadelphia, Etats-Unis
7. Division of Medical Genetics, Nemours/Alfred I. duPont Hospital for Children, Wilmington, Etats-Unis
8. Children's Hospital of Pittsburgh of UPMC, University of Pittsburgh, Pittsburgh, Etats-Unis
9. Department of Molecular and Human Genetics, Baylor College of Medicine, Houston, Etats-Unis
10. EA7364 RADEME, Université de Lille, Lille, France
11. Institut de génétique médicale, CHU Lille, Lille, France
12. Service de génétique clinique, CHU Lille, Lille, France
13. , Kaiser Permanente, Los Angeles, Etats-Unis
14. , Specially For Children Genetics, Austin, Etats-Unis
15. Unité de Génétique, CHU Le Mans, Le Mans, France

Mots clefs : Déficience intellectuelle, XLID, CUL4B, Syndrome de Cabezas, protéasome, ubiquitination, UbPr

Résumé :

Les variants pathogènes dans le gène *CUL4B* sont responsables d'une déficience intellectuelle lié à l'X, le syndrome de Cabezas (MIM #300354). Le phénotype commun à l'ensemble des patients associe une déficience intellectuelle à un retard psycho-moteur. Dans la majorité des cas, on observe également des anomalies des extrémités, une petite taille, des tremblements, des convulsions, un hypogonadisme, une obésité, des troubles de la démarches, ou encore une agressivité.

CUL4B code pour une protéine d'échafaudage, la culline-4B, qui participe à la formation du complexe Cullin4B-RING ubiquitine ligase (E3). Ce complexe joue un rôle essentiel dans la reconnaissance des protéines et l'ubiquitination qui précèdent leur dégradation cellulaire par le protéasome 26S.
Grâce à une collaboration multicentrique internationale, nous avons recensé à ce jour 12 patients de sexe masculin dont les mutations de *CUL4B*, identifiées par séquençage d'exome, n'ont pas encore été rapportées. Nous dénombrons 5 insertions-délétions avec décalage de la phase de lecture; 4 mutations non-sens ; 1 insertion-délétion sans décalage de la phase de lecture et 1 mutation faux-sens.
Des analyses sur cellules mononuclées du sang périphérique (PBMC) de patients ont permis de montrer que le système ubiquitine-protéasome UbPr était affecté par les altérations de *CUL4B*. En effet, les analyses protéiques par SDS-PAGE et western-blot mettent en évidence une augmentation significative des taux de la sous-unité Rpn5 (*PSMD12*) de la particule régulatrice 19S du protéasome 26S chez les individus présentant une mutation de *CUL4B*. Une analyse plus fine des extraits cellulaires des PBMC de patients sur gels non-dénaturants (native-PAGE) indique que l'excès de Rpn5 s'accompagne d'une activité chymotryptique accrue des complexes protéasomaux 26S ainsi que d'une diminution du pool intracellulaire de protéines ubiquitinylées.
Nos résultats suggèrent une implication directe de *CUL4B* dans la fonction régulatrice des sous-unités 19S du protéasome 26S. *CUL4B* participerait donc indirectement au maintien de l'homéostasie protéique cellulaire. Les mécanismes par lesquels s'exercent ces interactions ainsi que leurs conséquences, notamment dans le contexte pathologique de la déficience intellectuelle, restent toutefois à éclaircir.

P051 : Syndrome de Primrose: comparaison phénotypique de patients avec SNVs de ZBTB20 versus microdélétions 3q13.31 incluants ZBTB20

Auteurs :

Aurélien JUVEN (1), Sophie NAMBOT (1), Christel THAUVIN-ROBINET (1), Patrick CALLIER (2), Arnold MUNNICH (3), Tania ATTIE BITACH (4), Laurence COLLEAUX (5), Marlène RIO (3), Sophie RONDEAU (3), Julie STEFFANN (6), Amélie PITON (7), Salima EL CHEHADEH (8), Didier LACOMBE (9), Sonia BOUQUILLON (10), Fanny LAFFARGUE (11), Sophie BLESSON (12), Dominique MARTIN (13), Hubert JOURNEL (14), Olivier PICHON (15), Bertrand ISIDOR (16), Yannis DUFFOURD (17), Laurence FAIVRE (1)

1. Centre de génétique, CHU Dijon, Dijon , France
2. Service de génétique moléculaire, CHU Dijon, Dijon , France
3. Département de génétique Médicale, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
4. INSERM U1163, Institut Imagine , Paris, France
5. Département de génétique Médicale, Hôpital Necker-Enfants Malades, Dijon , France
6. Centre de génétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
7. Unité de Biologie et de Génétique Moléculaire, CHU de Strasbourg, Strasbourg, France
8. Service de Génétique Médicale, CHU de Strasbourg, Strasbourg, France
9. Service de Génétique Médicale, Centre Hospitalier Universitaire de Bordeaux-GH Pellegrin, Bordeaux, France
10. Service de Génétique Médicale, Hôpital Jeanne de Flandre, LILLE, France
11. Service de Génétique Médicale, CHU Estaing, Clermont-Ferrand, France
12. Service de Génétique - Consultation , CHRU de Tours - Hôpital Bretonneau, TOURS, France
13. Pôle de biopathologie, UF 3162, Centre Hospitalier du Mans, Le Mans, France
14. Service de Génétique Médicale, CH Bretagne Atlantique, Vannes, France
15. Unité de génétique Chromosomique, CHU Nantes, Nantes, France
16. Service de Génétique Médicale, CHU Nantes, Nantes, France
17. GAD Génétique des anomalies du developement , Université de Bourgogne, Dijon, France

Mots clefs : Syndrome de Primrose, ZBTB20, délétion 3q13.31, corrélation génotype-phénotype, déficience intellectuelle

Résumé :

Le syndrome de Primrose est caractérisé par une déficience intellectuelle variable, des troubles du comportement, une dysmorphie faciale avec macrocéphalie. Le phénotype est progressif avec survenue de faiblesse musculaire, contractures, troubles du métabolisme du glucose, perte auditive et calcifications ectopiques des pavillons. Des variants faux sens *de novo* de *ZBTB20* ont été identifiés en 2014 comme responsables de ce syndrome. *ZBTB20* joue un rôle important dans la cognition, la mémoire et l'apprentissage et a une action de répression de la transcription sur de nombreux gènes impliqués dans des troubles du développement. Un phénotype plus sévère et progressif est discuté parmi les patients porteurs de SNV par rapport à ceux ayant des larges délétions, par un mécanisme dominant négatif versus haploinsuffisance pour les délétions. Cependant, les patients présentant des délétions sont habituellement diagnostiqués plus jeunes par une approche pangénomique. Une étude de corrélation phénotype-génotype était attendue. Nous rapportons ici les données cliniques et moléculaires de 12 patients recrutés grâce à une collaboration nationale, 7 patients porteurs de SNV de *ZBTB20* et 5 porteurs de délétion 3q13.31 impliquant *ZBTB20*, et avons compilé ces données aux 33 patients de la littérature. Tous les patients présentaient une DI et un retard psychomoteur léger à sévère. La dysmorphie était similaire mais la macrocéphalie était plus fréquente chez les patients avec SNV (p=0.031), la perte auditive (p=0.015), les calcifications du pavillon de l'oreille, l'atrophie musculaire progressive et les contractures articulaires n'étaient observées que chez les patients avec SNV. Toutefois l'âge médian était de 9.1 ans chez les patients avec délétions contre 17.1 ans chez les patients avec SNVs. Afin d'améliorer l'information donnée aux familles, un suivi serait nécessaire pour conclure si le phénotype des patients avec délétion 3q13.31 est moins progressif que les patients avec SNV.

P052 : Identification de nouveaux gènes impliqués dans les formes autosomiques dominantes de la maladie de Parkinson

Auteurs :

Christelle Tesson (1), Christel Condroyer (1), Lyse Ruaud (1), Valérie Drouet (1), Suzanne Lesage (1), Alexis Brice (1)

1. INSERM U1127, CNRS UMR 7225, UPMC Université Paris 06 UMR S1127, Sorbonne Université Institut du Cerveau et de la Moelle épinière, ICM F-75013, Paris, France

Mots clefs : Parkinson disease, neurodegenerative disease, pathway

Résumé :

Background and objectives
Parkinson disease (PD) is the second most frequent neurodegenerative disorder, affecting 1% of the population above 65 years. It is characterized by the triad of symptoms: tremor, rigidity, and bradykinesia. To date, more than 10 validated genes have been identified, associated either with autosomal dominant (AD) or recessive (AR) forms of PD. However, the identified genes associated with AD PD only explain 10-15%, so many genes remain to be discovered. The aim of the work is to identify new genes involved in AD PD, using the largest multiplex PD families and applying the NGS technologies.
Methods and patients
We selected 20 largest multiplex families that fulfilled the following criteria:

- At least one affected with an age at onset ≤50 years
- At least 3 affected relatives on two generations
- Excluded for mutations in known AD PD associated-genes (*LRRK2*, *SNCA*, *VPS35*).

Following these criteria, we selected 73 affected relatives from 20 multiplex AD PD families for exome sequencing. We looked for rare heterozygous variants, predicted to be pathogenic using CADD and M-CAP scores, shared by all affected relatives within the family. Replication studies were done using the available exome data from ~1,500 PD cases and 560 controls from the IPDGC consortium. Pathway analyses were realized using the R package Clusterprofiler and the web interface ConsensuspathDB.
Results
For each family, we obtain a list of candidate genes that need to be refined (2 to 30). To prioritize candidate genes, we applied some filtering criteria which in order were 1) expression in brain; 2) replication of these possible candidate genes in additional families; 3) sharing common physiopathological pathways. None of the identified candidate genes was replicated, using home and IPDGC consortium exome databases. On the other hand, using Clusterprofiler we found that some of our candidates genes identified were enriched in a common pathway: regulation of dendrite morphogenesis. Most of these genes can be grouped in the same biological process, which is actin metabolism. Furthermore, using ConsensuspathDB we highlighted that some of these candidates' genes were able to interact with genes involved in PD like VPS35.
Conclusion
Although we identified a substantial number of multiplex families with AD PD, none of these families was explained by possible shared candidate genes, highlighting the genetic heterogeneity of PD. However, these genes were enriched in a common regulating pathway and some possibly interact with VPS35. Indeed we identified good candidate genes for Parkinson disease but further functional data were needed to strengthen the genetic data.

P053 : Les mutations de MYT1L sont associées à une déficience intellectuelle et une obésité

Auteurs :

Imène BOUJELBENE (1), Amèlie PITON (1), Patricia BLANCHET (2), Claire FEGER (3), Nadine KEMPF (3), Céline CUNY (3), Nadège CALMELS (1), Valérie BIANCALANA (3), Jean MULLER (1), Sinthuja PACHCHEK (3), Bénédicte DUBAN BEDU (4), Christine FRANCANNET (5), Sandrine PASSEMARD (6), Bertrand ISIDOR (7), Yves ALEMBIK (8), Jameleddine CHELLY (3), Jean-Louis MANDEL (3), Bénédicte GERARD (1)

1. Les Laboratoires de Diagnostic Génétique, Les hôpitaux universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
2. Département de Génétique Médicale, Hôpital Harnaud de Villeneuve, Montpellier, France
3. Les Laboratoires de Diagnostic Génétique, Les Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
4. Centre de Génétique Chromosomique, Hôpital Saint Vincent de Paul, Lille, France
5. Service de Génétique Médicale, CHU Estaing, Clermont Ferrand, France
6. Service de Génétique Clinique, Hôpital Robert Debré, Paris, France
7. Service de Génétique Médicale, CHU de Nantes - Hôpital Mère et Enfant, NANTES, France
8. Service de Génétique Médicale, Les hôpitaux universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France

Mots clefs : MYT1L, déficience intellectuelle, obésité, NGS, diagnostic

Résumé :

Introduction
Parmi les variations de nombre de copies associées à une déficience intellectuelle (DI), de rares cas de remaniements de la région 2p25.3 ont été rapportés. Le syndrome de délétion (ou de duplication) 2p25.3 (MRD39, MIM#616521) est caractérisé par un retard de développement, un retard de langage, une obésité et /ou des troubles de comportement. Plus rarement, des malformations du système nerveux central ou une épilepsie ont été rapportées. L'haploinsuffisance du gène *MYT1L* (*Myelin Transcription Factor 1-Like*, MIM#613084), contenu dans la région minimale critique en 2p25.3, code pour un facteur de transcription spécifique des neurones et serait responsable de la majorité de signes cliniques. Pour mieux définir le spectre phénotypique associé à ce gène, nous rapportons des observations de DI liée à des mutations intragéniques de *MYT1L*.
Patients et méthodes
Etude clinique et génétique de sept patients suivis pour DI. Ils ont été explorés par séquençage en haut débit d'un panel de gènes (275, 456 ou 520 gènes). La capture des régions codantes a été réalisée par hybridation (kit SureSelect QXT, Agilent) et le séquençage par le séquenceur NextSeq 500 ou Hiseq2500 (Illumina). L'analyse bio-informatique primaire a été réalisée par les logiciels BWA GATK WGS apps et Variant Studio (Illumina). L'analyse de ces gènes a montré que plus de 95 % des séquences codantes sont couverts avec une profondeur supérieure à 30X.
Résultats
Quatre garçons et trois filles, d'âge moyen de 10 ans 8 mois, étaient suivis pour une DI légère à sévère. L'interrogatoire a révélé une hypotonie néonatale (3/7), un retard des acquisitions motrices avec un âge moyen à la marche supérieur à deux ans (7/7) et un retard ou une absence du langage (6/6). Des troubles de comportement à type de traits autistiques (4/7), troubles de l'attention et de la concentration (4/7), hyperactivité (2/7), troubles du sommeil (2/7) et /ou accès de colère (2/7) ont été notés chez quatre patients. Cinq patients avaient une obésité avec un poids supérieur à 97 percentiles et deux avaient une épilepsie à type d'absences ou de convulsions fébriles généralisées. L'examen a montré des discrets traits dysmorphiques ou un strabisme chez quatre patients. L'IRM cérébrale a objectivé une anomalie non spécifique chez trois patients parmi cinq. Le séquençage haut débit a objectivé sept mutations différentes de *MYT1L* (3 faux-sens, 1 non-sens et 3 délétions avec décalage du cadre de lecture) parmi lesquelles une mutation a été déjà rapportée. Le caractère *de novo* a été confirmé par analyse des pools parentaux et génotypage de 5 SNPs d'identitovigilance chez cinq patients ou par séquençage Sanger avec vérification de la filiation chez les deux patients restants.
Conclusion
L'identification de ces mutations pathogènes nous a permis d'une part de confirmer le rôle critique de *MYT1L* dans remaniements de la région 2p25.3 et d'autre part, de mieux préciser le spectre clinique associé à les mutations *MYT1L*.

P054 : Des mutations du gène WDR81 sont responsables de Microcéphalie et Microlissencéphalie par un mécanisme phisiopathologique conduisant à des anomalies de progression du cycle cellulaire.

Auteurs :

Mara Cavallin (1), M. Alexandra Rujano (2), Nathalie Bednarek (3), Daniel Medina-Cano (4), Antoinette Bernabe-Gelot (5), Severine Drunat (5), Camille Maillard (1), Meriem Garfa-Traore (6), Christine Bole (7), Patrick Nitschké (8), Claire Beneteau (9), Thomas Besnard (9), Benjamin Cogné (9), Marion Eveillard (10), Alice Kuster (11), Karine Poirier (5), Alain Verloes (5), Jelena Martinovic (12), Laurent Bidat (13), Marlène Rio (14), Stanislas Lyonnet (1), M. Louise Reilly (15), Nathalie Boddaert (16), Mélanie Jenneson-Lyver (3), Jacques Motte (17), Martine Doco-Fenzy (18), Jamel Chelly (19), Tania Attié-Bittach (1), Matias Simons (2), Vincent Cantagrel (4), Sandrine Passemard (5), Alexandre Baffet (20), Sophie Thomas (1), Nadia Bahi-Buisson (1)

1. Laboratory of Embryology and Genetics of Congenital Malformations INSERM UMR-1163, Imagine Institute, Paris, France
2. Laboratory of Epithelial biology and disease , Institut Imagine, INSERM UMR1163, Université Paris Descartes, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, Imagine Institute, Paris, France
3. Neurologie Pédiatrique médecine néonatale et de réanimation pédiatrique , POLE FEMME PARENTS ENFANT, CHU de Reims, Reims, France
4. INSERM UMR1163, Université Paris Descartes, Imagine Institute, Paris, France
5. Génétique Moléculaire Département de Génétique, INSERM U1141, Hôpital Robert Debré, Paris, France
6. Paris Descartes-Sorbonne Paris Cité University, Imagine Institute, Cell Imaging platform, 75015 Paris, France, Imagine Institute, Paris, France
7. Paris Descartes-Sorbonne Paris Cité University, Imagine Institute, Genomic Core Facility, 75015 Paris, France , Imagine Institute, Paris, France
8. , Imagine Institute, Paris, France
9. CHU Nantes, Service de Génétique Médicale, 9 quai Moncousu, 44093 Nantes CEDEX 1, France, CHU Nantes, Nantes, France
10. CHU Nantes, Service d'Hématologie Biologique, 9 quai Moncousu, 44093 Nantes CEDEX 1, France, CHU Nantes, Nantes, France
11. Service de réanimation Pédiatrique, Centre de compétence des maladies héréditaires du métabolisme, 38 boulevard Jean Monet, 44093 Nantes, France, CHU Nantes, Nantes, France
12. Unit of Fetal Pathology, Hospital Antoine Béclère, Clamart, France
13. Centre de Diagnostic Prenatal, CH de Pontoise, Pontoise, France
14. Génétique Moléculaire Département de Génétique, Hôpital Necker Enfants malades, Paris, France
15. 22. INSERM, UMR-1163, Laboratory of inherited kidney diseases, 75015 Paris, France, Imagine Institute, Paris, France
16. Radiologie Pédiatrique, Université Paris Descartes, Hôpital Necker Enfants malades, Paris, France
17. Neurologie Pédiatrique médecine néonatale et de réanimation pédiatrique POLE FEMME PARENTS ENFANT / Alix de Champagne CHU DE REIMS, CHU Reims, Reims, France
18. Service de Génétique et Biologie de la Reproduction, CHU de Reims, Paris, France
19. IGBMC, INSERM U964 , CNRS UMR 7104, Université de Strasbourg. 67404 Illkirch Cedex, France, CNRS UMR 7104, Strasbourg, France
20. Institut Curie. CNRS UMR144, PSL Research University, Paris, France, Institut Curie, Paris, France

Résumé :

Les malformations du développement cortical cérébral (MCD) représentent une cause majeure de déficience intellectuelle et d'épilepsie. Parmi celles-ci, la microlissencéphalie (MLIS) associe une microcéphalie congénitale (MIC) à une anomalie sévère de gyration corticale, la lissencéphalie. Les mécanismes physiopathologiques de cette MCD complexe restent à définir mais l'implication d'anomalies de la neurogenèse et/ou de la migration neuronale sont largement suspectés.
Malgré la récente identification de 6 nouveaux gènes responsables de MLIS, la majorité des cas demeure sans cause génétique identifiée à ce jour. Par une stratégie de séquençage haut débit d'exome chez cinq familles non consanguines avec 7 cas atteints de MIC ou MLIS, nous avons identifier 8 mutations hétérozygotes composites dans *WDR81. Ce* gène avait été précédemment impliqué dans un syndrome associant une ataxie cérébelleuse, une déficience intellectuelle et la marche à quatre pattes, le syndrome CAMARQ2. Le spectre phénotypique de nos 7 cas s'étend d'une MIC avec atrophie cérébelleuse (1 cas), une MLIS sans atteinte de la fosse postérieure (4 cas) à une MLIS avec hypoplasie cérébelleuse (1 cas). Des corrélations génotype-phénotype ont pu être établies, où les mutations non-sens sont associées aux phénotypes les plus sévères et entraînent une dégradation du transcrit (Nonsense-mediated mRNA decay ou NMD) suggérant un mécanisme de type perte de fonction. De plus, l'analyse du cycle cellulaire par immunocytochimie sur fibroblastes issus de patients, nous a permis de démontrer une augmentation de l'index mitotique secondaire à une augmentation significative des cellules en prométaphase et métaphase. Parallèlement, des études *in vivo* d'invalidation de l'orthologue de *WDR81* chez *Drosophila Melanogaster*, nous ont permis de démontrer une augmentation significative de l'index mitotique des cellules souches neurales cérébrales associé à un retard de progression du cycle cellulaire dû à un blocage des cellules souches neurales en prométaphase.

Cette étude a permis de mettre en évidence l'implication de *WDR81* dans un spectre phénotypique de MCD complexes incluant la microcéphalie avec anomalies de gyration corticale allant de modéré à extrêmement réduite avec ou sans anomalie cérébelleuse. Nos résultats suggèrent un rôle clé de WDR81 dans la régulation du cycle cellulaire qui est très conservé au cours de l'évolution.

WDR81 abstract assises 2018.docx

P055 : Analyse moléculaire d'un cas de patient suspecté de PWS

Auteurs :

Imène BOUJELBENE (1), Eric DAHLEN (2), Magali AVILA (3), Nadine KEMPF (2), Laura MARY (2), Marguerite MIGUET (2), Christel DEPIENNE (1), Lionel VAN MALDERGEM (4), Bénédicte GERARD (1)

1. Les Laboratoires de Diagnostic Génétique, Les hôpitaux universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
2. Les Laboratoires de Diagnostic Génétique, Les Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
3. Service de Pédiatrie, CHRU JEAN MINJOZ, BESANCON, France
4. Centre de Génétique Humaine, Centre Hospitalier Regional Universitaire de Besançon, BESANCON, France

Mots clefs : PWS, SNORD116, ATP10A, GABRB3, RT-qPCR, MS-MLPA

Résumé :

La majorité des signes cliniques dans le syndrome Prader-Willi (PWS, MIM# 176270) sont liés à un défaut d'expression d'origine paternelle des SNORD116. L'expression de ces petits ARN nucléolaires (snoRNA) est sous le contrôle du promoteur du *SNRPN* et ils sont générés suite à l'excision des introns. Le PWS était évoqué chez un enfant de 11 ans présentant des difficultés d'apprentissage, des troubles de comportement obsessionnels compulsifs associés à une obésité évoluant depuis la petite enfance. L'étude de méthylation spécifique par MS-PCR de la région 15q11.13 est revenue normale alors que l'ACPA a objectivé un gain d'une copie de la région 15q12q13.1 de 2,6 Mb : arr[hg19] :15q12q13.1(25,917,966-28,536,634)x3. Une analyse des marqueurs microsatellites a montré que ce gain était d'origine paternelle. Le caractère hérité ou *de novo* de la duplication n'a pas pu être étudié. Bien que la présentation clinique ne soit pas typique du PWS, notamment l'absence de l'hypotonie néonatale, des difficultés alimentaires et de l'hypogonadisme, la mise en évidence d'un CNV rare en aval de la région critique PWACR était intrigante.
Nos objectifs étaient de rechercher dans un premier temps une anomalie de méthylation en mosaïque de la région 15q11.13 par MS-MLPA et d'apprécier dans un deuxième temps une éventuelle interaction entre la région dupliquée et les gènes soumis à empreinte impliqués dans le PWS localisés en *cis*, en étudiant l'expression de *SNRPN* et SNORD116 par RT-qPCR sur une culture de fibroblastes.
Le profil de méthylation par MS-MLPA est revenu normal et n'a pas révélé d'anomalies de méthylation en mosaïque pouvant expliquer les symptômes Prader-Willi *like*. L'étude quantitative n'a pas objectivé d'anomalies de nombre de copies des gènes soumis à empreinte dans PWACR et elle a confirmé le gain d'une copie des gènes *ATP10A* et *GABRB3* inclus dans la région 15q12q13.1. L'étude quantitative des transcrits de *SNRPN* et de SNORD116 par RT-qPCR n'a pas révélé de différence significative d'expression d'aucun de ces gènes entre le patient et deux témoins normaux. Le CNV identifié chez le cas étudié est d'origine paternelle et n'inclut pas la PWACR. Cette région en gain contient notamment le gène *ATP10A* et les gènes *GABRB3*, *GABRG3* et *GABRA5* codant pour des sous unités du récepteur GABA. Une revue de la littérature nous a permis de proposer qu'une surexpression de *ATP10A* d'origine paternelle pourrait expliquer l'obésité observée dans le cas étudié. De même une dysrégulation de l'expression des gènes du récepteur GABA dans le cerveau pourrait expliquer, au moins en partie, les troubles du comportement observés dans les duplications 15q11q13. L'interprétation de ce CNV, en thème de pathogénicité, demeure encore difficile, notamment devant l'impossibilité de déterminer son caractère transmis ou *de novo*.

P056 : Syndrome d'Aicardi : une nouvelle stratégie d'identification des bases génétiques

Auteurs :

Mara Cavallin (1), Patrick Nitschké (2), Barthélémy Caron (3), Antonio Rausell (3), Francesca Darra (4), Elena Fiorini (4), Sebastien Lebon (5), Pier Angelo Veggiotti (6), Federico Vigevano (7), Svetlana Gataullina (8), Marie Bourgeois (9), Alexis Arzimanoglou (10), Nino Epitashvili (11), Isabelle Desguerre (8), Olivier Dulac (8), Bernardo Dalla Bernardina (4), Nadia Bahi-Buisson (1)

1. Laboratory of Embryology and Genetics of Congenital Malformations INSERM UMR-1163, Imagine Institute, Paris, France
2. , Imagine Institute, Paris, France
3. Clinical Bioinformatics lab, Imagine Institute, Paris Descartes University - Sorbonne Paris Cité, 75015, Paris, France, Imagine Institute, Paris, France
4. Neuropsichiatria Infantile, AOUI Verona, Verona, Italie
5. CHUV, CH-1011 Lausanne, Suisse, CHUV Lausanne, Lausanne, Suisse
6. Neuropsichiatria Infantile, AOUI Pavia, Pavia, Italie
7. Servizio di Neurologia e Neuroscienze, Ospedale Bambino Gesù, Roma, Italia, Ospedale Bambino Gesù, Roma, Roma, Italie
8. Neurologie Pédiatrique, Hopital Necker Enfants Malades, Paris, Hopital Necker Enfants Malades, Paris, Paris, France
9. Neurochirurgie Pédiatrique, Hopital Necker Enfants Malades, Paris, Hopital Necker Enfants Malades, Paris, Paris, France
10. Neurologie Pédiatrique, Hôpital Femme Mère Enfants, Lyon, Hôpital Femme Mère Enfants, Lyon, Lyon, France
11. Mrcheveli laboratories, Tsiblisi, Georgia, Mrcheveli laboratories, Tsiblisi, Georgia, Tsiblisi, Géorgie

Résumé :

Le syndrome d'Aicardi (AIS) est caractérisé par l'association de lacunes chorio-rétiniennes, de spasmes infantiles et d'une agénésie du corps calleux (ACC) associée à un spectre de malformations corticales complexes. Décrit exclusivement chez les filles, ce syndrome est considéré comme lié au chromosome X même si les bases génétiques demeurent inconnues à ce jour.
Dans le cadre d'une étude multicentrique, une large cohorte de 25 patientes AIS a été explorée par CGH-Array à haute résolution (60kb) et séquençage haut débit d'exome (WES) en trio. L'exploration par CGH-array n'a mis en évidence aucun remaniement sur le chromosome X. Cependant, 3 patientes présentaient des duplications et délétions autosomales. En parallèle, l'analyse des données de WES d'abord focalisée sur le chromosome X n'a pas permis d'identifier un gène candidat. De plus, l'inactivation du chromosome X a été vérifiée aléatoire sur l'ensemble de la cohorte. Nous avons alors élargi notre recherche aux régions codantes autosomales en testant les autres modes de transmission (*de novo* ou recessif). Aucun gène candidat n'a pu être mis en évidence suggérant la potentielle implication de variants touchants des régions non codantes. Afin de tester cette hypothèse nous avons choisi une stratégie combinant séquençage du génome entier (WGS) et étude transcriptomique par RNA-Seq sur ARN extraits de fibroblastes des patients. En première intention, nous avons débuté l'analyse bioinformatique de tous les variants non codants du chromosome X, avec une attention particulière sur des gènes appartenant aux mêmes clusters fonctionnels. La pathogénicité de ces variants est testée *in silico* grâce au logiciel NCBoost basé sur leur niveau de conservation intra et inter-espèces. Enfin, afin de tester l'hypothèse d'une potentielle variabilité génétique, nous avons parallèlement débuté une analyse des données de WGS sur l'ensemble des régions non codantes autosomales pouvant réguler des cluters fonctionnels de gènes du chromosome X.
Afin de progresser dans l'identification des bases génétiques du syndrome d'Aicardi, nous proposons de tester l'hypothèse de l'implication de variants non codants régulant des clusters fonctionnels de gènes localisés ou non sur le chromosome X.

P057 : Extension phénotypique de l'encéphalopathie épileptique infantile précoce dû à de nouvelles mutations du gène SCL25A22.

Auteurs :

Camille Lemattre (1), Marion Imbert-Bouteille (1), David Genevieve (1), Patricia Blanchet (1)

1. Département de Génétique Médicale, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France

Mots clefs : Encéphalopathie épileptique infantile précoce, épilepsie, SLC25A22, glutamate, séquençage de nouvelle génération

Résumé :

Introduction : L'encéphalopathie épileptique infantile précoce (EEIE) est un groupe hétérogène de maladies caractérisées par une épilepsie néonatale sévère, principalement myoclonique, débutant dans les premières semaines ou les premiers mois de vie. L'électroencéphalogramme (EEG) intercritique montre habituellement un aspect caractéristique de « suppression burst ». Le pronostic est généralement sévère quelque soit le type d'EEIE et les enfants décèdent durant les deux premières années de vie ou survivent dans un état végétatif. Les différents types d'EEIE se distinguent par le gène impliqué. L'EEIE de type 3 (OMIM #609304) est due à des mutations du gène *SLC25A22* codant pour un transporteur glutamate/H^+ mitochondrial, majoritairement exprimé dans le cerveau. A l'heure actuelle, 2 mutations faux-sens à l'état homozygote ont été décrites : p.Pro206Leu et la p.Gly236Trp (7 patients de 3 familles consanguines). Nous rapportons ici une famille présentant un phénotype moins sévère d'EEIE de type 3 pour laquelle nous avons identifié deux variants à l'état hétérozygotes dans le gène *SLC25A22*. Des études fonctionnelles ont été réalisées.
Patients : Les 3 patients (une sœur, son frère et une cousine germaine) présentent un phénotype semblable : épilepsie myoclonique débutant dans les premiers jours ou semaines de vie, hypotonie axiale et périphérique, retard de développement global sévère avec quelques acquisitions et PC normal. L'EEG intercritique ne montre pas de « suppression burst ».
Méthodes : Un séquençage par whole-exome a été réalisé chez un patient et un parent de chaque famille.
Résultats : Nous avons identifié deux variants hétérozygotes dans le gène *SLC25A22*, jamais rapportés dans les bases de données et présents chez les 3 enfants : c.813_814delTG, p.Ala272Glnfs*144, hérité des mères (qui sont sœurs) et c.818G > A, p.Arg273Lys, hérité des pères, révélant un lien de parenté éloigné entre eux. Des études fonctionnelles ont montré que l'oxydation du glutamate était significativement altérée dans les cultures de fibroblastes d'une des patientes.
Discussion : Les patients décrits ici présentent un phénotype de l'EEIE de type 3 plus modéré que les patients précédemment rapportés dans la littérature, caractérisé par l'absence de « suppression burst ». Ils présentent quelques acquisitions et surtout sont toujours en vie après l'âge d'un an (8 ans pour la plus âgée). Le diagnostic moléculaire a pu être posé grâce à l'exome. Ce sont les premiers enfants rapportés de parents non apparentés et présentant des mutations hétérozygotes composites. Les analyses fonctionnelles ont permis de confirmer l'implication du gène *SLC25A22* dans ce phénotype atypique.

P058 : Déficience intellectuelle, hypotonie et épisodes d'hyperthermie inexpliquée : pensez COG7.

Auteurs :

Marine Tessarech (1), Agnès Guichet (1), Magalie Barth (2), Sandrine Vuillaumier (3, 4), Julien Durigneux (5), Isabelle Pellier (6), Thierry Dupré (3, 4), Arnaud Bruneel (3, 7), Patrick Van Bogaert (5), Nathalie Seta (3, 8), Dominique Bonneau (1), Estelle Colin (2)

1. Département de biochimie et génétique, CHU Angers, Angers, France
2. Département de biochimie et génétique, CHU Angers, angers, France
3. Biochimie Métabolique et Cellulaire, AP-HP, Hôpital Bichat-Claude Bernard, Paris, France
4. INSERM U1149 CRB3, Université Denis Diderot, Paris 7, Paris, France
5. Neuropédiatrie, CHU Angers, Angers, France
6. Pédiatrie, CHU Angers, Angers, France
7. INSERM UMR-1193 "Mécanismes cellulaires et moléculaires de l'adaptation au stress et cancérogénèse", Université Paris-Sud, Châtenay-Malabry, France
8. , Université Paris Descartes, Paris, France

Mots clefs : Déficience intellectuelle, hyperthermie, COG7, CDG syndrome type IIe, électrophorèse 2D

Résumé :

Les déficits congénitaux de la glycosylation (CDG syndromes) sont un groupe de pathologies causées par un défaut de synthèse des glycoprotéines. *COG7* est un gène codant pour une des sous unités du complexe oligomérique du Golgi (COG), impliqué dans le trafic intracellulaire et la modification des glycoprotéines. Les variants pathogènes de *COG7*, entraînent un CDG syndrome de type IIe, ayant pour conséquences des anomalies de la voie de la N- et de la 0-glycosylation. Jusqu'à présent, seuls huit cas ont été rapportés dans la littérature.
Nous décrivons deux sœurs issues d'un couple consanguin d'origine marocaine et faisons une revue de la littérature. Ces deux sœurs présentent un phénotype associant une déficience intellectuelle modérée à sévère avec des anomalies à l'imagerie cérébrale, des épisodes de fièvre inexpliqués avec tableau de syndrome d'activation macrophagique-like, une hépatomégalie et un retard de croissance staturo-pondérale. Elles présentent également une insensibilité à la douleur au niveau des extrémités qui n'a jamais été décrite auparavant.
Par l'association des techniques d'*homozygoty mapping* et de séquençage exomique en quartet, nous avons mis en évidence un variant intronique homozygote c.170-7A>G dans le gène *COG7,* précédemment rapporté dans une famille consanguine marocaine, faisant évoquer un effet fondateur de ce variant. Sur le plan biochimique, l'électrophorèse de la transferrine sur papier guthrie était normale et seule l'analyse 2D des isoformes de la transferrine et de l'apoC3 a permis de confirmer le diagnostic de CDG syndrome de type IIe.
Cette observation d'une famille consanguine permet l'identification de deux nouveaux cas de syndromes CDG de type IIe avec un variant c.170-7A>G, dans le gène *COG7*. Nous étendons le phénotype des CDG syndromes causés par *COG7* et montrons l'importance de l'analyse de la transferrine et de l'ApoC3 en électrophorèse 2D pour l'orientation diagnostique des CDG syndromes.

P059 : Identification d'une nouvelle mutation homozygote du gène ADAT3 liée à un déficit intellectuel, retard de croissance et strabisme

Auteurs :

Abdelkrim SAADI (1), saadia LOUGANI (1), Belaid AIT ABDELKADER (2), Wahiba AMER ELKHOUDOUD (3), Laurence COLLEAUX (4), Myriam ABADA-BENDIB (1)

1. neurologie, etablissement hospitalier specialise de Ben-aknoun, Alger, Algérie
2. laboratoire de cytogenetique , Centre Pierre Marie Curie, Alger, Algérie
3. service de neurologie, etablissement hospitalier specialisé Ben Aknoun , Alger, Algérie
4. université Paris-Descartes-Sorbonne Paris cité ,Institut imagine, hopital Necker enfants malades , Paris, France

Mots clefs : Déficit intellectuel autosomique récessif , retard de croissance ,strabisme, ADAT3

Résumé :

La déficience intellectuelle représente un problème de santé publique. C'est l'handicap majeur le plus fréquent chez l'enfant avec une prévalence allant de 1 à 3%. Les déficits intellectuels autosomiques récessifs sont estimés à 25% des causes génétiques. Cependant, dans une analyse récente des données de la littérature Vissers et al retrouvent 416 gènes dont 90% sont liés à une déficience intellectuelle. Néanmoins le nombre total de gènes impliqués dans les DIAR est estimé à un millier et les formes non syndromiques sont peu nombreuses.
Nous rapportons l'étude clinique et génétique de 3 patients (2 garçons ,une fille) agés entre 23 et 34 ans ,nés de parents apparentés avec des mensurations normales qui présentent un déficit intellectuel sévère,des troubles autistiques ,un strabisme chez les 2 garçons, une petite taille chez les 2/3 et des signes dysmorphiques non spécifiques de la face et des extrémités. Aucun patient ne présente de crises d'épilepsie ni d'anomalies à l'IRM cérébrale. Le séquençage de l'exome entier (WES) a permis l'identification d'un variant (c.970C>G,p.His324Asp) homozygote du gène ADAT3 chez les 3 patients et hétérozygote chez les parents,considéré comme délétère par plusieurs logiciels de prédiction. Le gène ADAT3 est impliqué dans la régulation de la traduction des protéines.
A ce jour ,une seule mutation (c.382G>A ,V128M) du gène ADAT3 a été rapportée par Alazami et al chez 39 patients appartenant à 19 familles saoudiennes qui présentent un déficit intellectuel associé souvent à un strabisme et un retard de croissance. D'autres caractéristiques comme la microcéphalie ,l'hypotonie, la spasticité ,l'épilepsie et de discrètes anomalies cérébrales telles que l'atrophie cérébrale,corps calleux fin, retard de myélinisation n'ont pas été retrouvés chez nos patients.
Finalement ,la nouvelle mutation homozygote faux sens (c.970C>G;p.H324A) ADAT3 est à l'origine d'un déficit intellectuel sévère,des troubles autistiques et du comportement durant l'enfance ,une petite taille ,un strabisme et quelques signes dysmorphiques non spécifiques de la face et des extrémités.

P060 : Variabilité et chevauchement clinique des phénotypes liés aux mutations des gènes de la voie mTOR : à propos de 6 cas du CHU de Rennes.

Auteurs :

Paul Rollier (1), Louise Goujon (1), Chloé Quelin (1), Philippe Loget (2), Pierre Vabres (3), Christèle Dubourg (4), Wilfrid Carré (4), Christophe Philippe (5), Paul Kuentz (5), Jean-Baptiste Riviere (5), Yannis Duffourd (5), Laurence Faivre (6), Nicolas Sevenet (7), Michel Longy (7), Laurent Pasquier (1), Virginie Carmignac (5), Sylvie Odent (1)

1. Service de génétique clinique, CHU de Rennes, RENNES, France
2. Anatomie et cytologie pathologiques, CHU de Rennes, RENNES, France
3. Service de dermatologie, CHU de Dijon, DIJON, France
4. Laboratoire de génétique moléculaire, CHU de Rennes, RENNES, France
5. Laboratoire de génétique moléculaire, CHU de Dijon, DIJON, France
6. Service de génétique clinique, CHU de Dijon, DIJON, France
7. Laboratoire de génétique moléculaire, Institut Bergonié, BORDEAUX, France

Mots clefs : PIK3CA, MTOR, STRADA, syndrome mégalencéphalie-anomalies capillaires, syndrome polyhydramnios-mégalencéphalie-épilepsie symptomatique, syndrome de Smith-Kingsmore, inhibiteurs mTOR, mosaïcisme

Résumé :

Introduction :
La voie PI3K/AKT/MTOR est une voie majeure de signalisation intracellulaire. Cette dernière a déjà été explorée en oncologie mais est également impliquée dans un certain nombre de pathologies développementales. Selon le gène muté et le niveau de dysrégulation correspondant sur la voie, on distingue différents syndromes, qui partagent pour autant un certain nombre de traits phénotypiques communs. La description de six patients suivis au sein du service de génétique du CHU de Rennes permet d'illustrer cette dualité entre variabilité et chevauchement clinique des pathologies de la voie MTOR.

Cas cliniques :
Les patients 1 et 2, respectivement un cas fœtal et un cas adulte, présentent un syndrome mégalencéphalie-anomalies capillaires (MCAP) lié à des mutations en mosaïque du gène *PIK3CA*.
Le patient 3 présente quant à lui un syndrome polyhydramnios, mégalencéphalie et épilepsie symptomatique (PMSE) lié à une mutation homozygote dans le gène *STRADA*.
Les patients 4, 5 et 6 présentent des mutations du gène *MTOR*, le premier à l'état constitutionnel, les deux derniers en mosaïque, responsable d'un syndrome de Smith-Kingsmore (associant macrocéphalie, déficience intellectuelle et épilepsie).

Discussion :
La voie PI3KT/AKT/ MTOR joue un rôle majeur dans la régulation de la prolifération, la croissance et la survie cellulaire. Les mutations pathogènes des gènes codant pour les protéines s'intégrant dans cette voie sont responsables d'une hyperactivation de cette voie et par conséquence d'une hyperprolifération cellulaire au sein des tissus atteints. Les syndromes illustrés par nos cas sont à mettre en regard avec les nombreux autres syndromes de la voie, notamment le Bannayan-Riley-Ruvalcaba (*PTEN*), le Protée (*AKT1*), la sclérose tubéreuse de Bourneville (*TSC1, TSC2*), le Peutz-Jeghers (*STK11*). Ces syndromes sont tous la conséquence de l'hyperprolifération cellulaire qui selon les tissus dans lesquels elle s'exprime, est responsable de la variabilité phénotypique du spectre clinique. La rapamycine et ses dérivés ont déjà montré leur efficacité dans le traitement des cancers pour leur action anti-proliférative et anti-angiogénique par inhibition de la voie MTOR. Leur bénéfice a également été démontré plus récemment dans le traitement des manifestations de la sclérose tubéreuse de Bourneville. L'intérêt serait de pouvoir extrapoler l'efficacité de ces thérapeutiques utilisées dans la sclérose tubéreuse de Bourneville aux autres pathologies de la voie MTOR, puisque qu'elles partagent toutes le même mécanisme physiopathologique.
Conclusion :
Un patient présentant un phénotype compatible avec une hyperprolifération tissulaire doit faire penser au spectre des pathologies de la voie MTOR.
L'enjeu de leur diagnostic, outre le conseil génétique, réside dans la possibilité de perspectives thérapeutiques au décours, via des inhibiteurs de la voie mTOR.

P061 : Etude des variations génétiques rares et fréquentes dans des familles multiplexes de troubles bipolaires

Auteurs :

Elisa Courtois (1, 2), Annabelle Henrion (1, 2), Caroline Barau (3), Bruno Etain (2, 4), Philippe Le Corvoisier (5), Marion Leboyer (6, 2), Stéphane Jamain (1, 2)

1. Equipe Psychiatrie Translationnelle, INSERM U955, Université Paris Est Créteil, Créteil, France
2. , Fondation Fondamental, Créteil, France
3. Plateforme des Ressources Biologiques, AP-HP Hôpital H. Mondor-A. Chenevier, Créteil, France
4. Service de Psychiatrie, AP-HP Hôpital Lariboisiere Fernand Widal, INSERM U705 CNRS UMR 8206, Université Diderot, Paris, France
5. Centre d'Investigation Clinique 1430 et APHP, INSERM, Créteil, France
6. Equipe Psychiatrie Translationnelle, INSERM U955, Université Paris Est Créteil, AP-HP, DHU PePSY, Pôle de psychiatrie et d'addictologie des Hôpitaux Henri Mondor, Créteil, France

Mots clefs : génétique, psychiatrie, troubles bipolaires, exomes

Résumé :

Avec une prévalence de 1% dans la population générale, les troubles bipolaires (TB) constituent un problème majeur de santé publique, dont l'un des principaux défis est de comprendre l'étiologie. Bien que les études familiales et de jumeaux permettent d'estimer une héritabilité supérieure à 60% dans les TB, les études génétiques récentes peinent encore à clairement identifier les mécanismes moléculaires qui sous-tendent la maladie. Un modèle génétique complexe et hétérogène semble néanmoins émerger aujourd'hui, combinant l'effet de variations génétiques fréquentes à faible effet et de variations plus rares avec une pénétrance plus élevée. Afin de limiter cette hétérogénéité et d'identifier des mécanismes moléculaires pouvant jouer un rôle dans l'apparition des troubles, nous avons effectué un séquençage d'exomes de 32 individus provenant de 7 familles multiplexes. Nous avons ainsi étudié la ségrégation entre des variations génétiques prédites pour avoir des conséquences fonctionnelles et la pathologie dans chaque famille. Par ailleurs, nous avons déterminé si ces variations génétiques affectaient des voies biologiques particulières et si celles-ci avaient également été identifiées par des études d'association sur l'ensemble du génome (GWAS) ou dans d'autres troubles psychiatriques, comme la schizophrénie et les troubles dépressifs majeurs qui partagent une part d'héritabilité avec les TB. En parallèle, nous avons génotypé les membres de ces familles pour plus de 900 000 polymorphismes et estimé un score polygénique de vulnérabilité pour chaque individu afin de déterminer la contribution des variations génétiques rares et des variations fréquentes. L'ensemble de ces résultats devrait nous permettre d'identifier les voies biologiques plus fréquemment altérées chez les personnes avec des TB et ainsi proposer des stratégies thérapeutiques adaptées à chaque famille.

P062 : Chorée bénigne héréditaire familiale sans anomalie de NKX2-1 : Mise en évidence d'une région régulatrice de NKX2-1 ou identification d'un nouveau gène de chorée héréditaire ?

Auteurs :

Adeline Bonnard (1), Myriam Rachid (1), Malek Louha (2), Benoît Funalot (3, 4), Diana Rodriguez (5, 6), Anne-Catherine Bachoud-Levi (7), Françoise Langlet (8), Valérie Olin (8), Boris Keren (9), Jean-Pierre Siffroi (1), Sandra Chantot-Bastaraud (1), Diane Doummar (5)

1. Département de Génétique Médicale, Hôpital Armand-Trousseau, APHP, Paris, France
2. Service de Biochimie et de Génétique Moléculaire, Hôpital Armand-Trousseau, APHP, Paris, France
3. Université Paris-Est, Faculté de Médecine, Créteil, Paris, France
4. Département de Génétique, Hôpital Henri Mondor, AP-HP, Créteil, France
5. Unité de Neuropédiatrie, Hôpital Armand-Trousseau, APHP, Paris, France
6. Centre de Référence "Malformations et Maladies Congénitales du Cervelet," , Université Paris Diderot, Sorbonne Paris Cité, Inserm, U1141, gPROTECT, , Paris/Lyon/Lille, France
7. Centre de Référence Maladie de Huntington, Service de Neurologie, Hôpital Henri Mondor-Albert Chenevier, Créteil, France
8. Département de Génétique, Hôpital Armand-Trousseau, APHP, Paris, France
9. Département de Génétique, Groupe Hospitalier Pitié Salpetrière, APHP, Paris, France

Mots clefs : NKX2-1, MBIP, SNP Array, chorée bénigne héréditaire

Résumé :

La chorée bénigne héréditaire ou familiale (OMIM 118700) est un trouble du mouvement hyperkinétique rare, débutant précocement dans la petite enfance mais peu progressif à l'âge adulte. C'est une maladie à transmission autosomique dominante, en rapport avec des mutations ou délétions du gène *NKX2-1*. Elle fait également partie du syndrome cerveau-poumon-thyroïde (OMIM 610978) dans lequel des atteintes respiratoires et thyroïdiennes sont observées.
Une centaine de cas de délétions de tailles variables ont été rapportés à ce jour. L'analyse en SNP array d'une famille multiplexe de Chorée Héréditaire Bénigne nous a permis de mettre en évidence une microdélétion 14q13.33 de 140kb à environ 200kb en 3'de *NKX2-1*, ségrégant chez les membres symptomatiques de la famille et contenant un seul gène : *MBIP,* non rapporté à ce jour en pathologie humaine.
Dans cette famille, le cas index est une jeune femme de 22 ans, hypotonique durant les premiers mois de vie et ayant développé dès l'âge d'un an une chorée affectant le tronc et les membres associée à des myoclonies et à une dystonie touchant principalement les membres inférieurs. Les difficultés à la marche ont nécessité l'utilisation d'un fauteuil roulant. Il n'existait pas de pathologie pulmonaire ou thyroïdienne associée. Son grand-père maternel, sa mère ainsi que quatre de ses oncles et tantes présentaient eux aussi un phénotype neurologique pur.
Des délétions responsables d'un syndrome cerveau-poumon-thyroïde et comprenant plusieurs gènes dont *MBIP* ont déjà été rapportées dans la littérature. La délétion identifiée chez notre patiente est la plus petite décrite à ce jour. Elle n'intéresse que le gène MBIP et permet ainsi de réduire la région minimale critique impliquée dans le phénotype. La co-expression au niveau embryonnaire de ces deux gènes, *nkx2-1 et mbip*, a été démontrée chez la souris au niveau thyroïdien, pulmonaire et cérébral. L'implication du gène *MBIP* ou de sa région adjacente non codante dans la régulation du gène *NKX2-1* n'a pas été démontrée à ce jour. En effet l'expression de *NKX2-1* est tissu spécifique (expression thyroïdienne, pulmonaire et cérébrale), et NKX2-1 n'est pas exprimé dans le tissu sanguin circulant. L'absence de tissu accessible rend ainsi les études fonctionnelles difficiles. La mise au point d'une PCR en temps réel, tissu spécifique, devrait permettre d'étudier l'expression de *NKX2-1* chez tous les membres de la famille porteurs de la délétion comprenant *MBIP* et d'appréhender ainsi son mécanisme d'action.

P063 : La régulation de SHH par la voie Notch, ou comment expliquer l'hétérogénéité phénotypique de l'holoprosencéphalie.

Auteurs :

Houda HAMDI-ROZE (1, 2), Aurélie RIZZO (1), Maïlys RUPIN (1), Michelle WARE (1), Hélène Guyodo (1), Véronique DAVID (1, 2), Valérie DUPE (1)

1. UMR 6290 CNRS, Institut de Génétique et Développement de Rennes, Université de Rennes 1, Rennes, France
2. Laboratoire de Génétique Moléculaire et Génomique, CHU de Rennes, Rennes, France

Mots clefs : holoprosencéphalie, HPE, SHH, NOTCH, corrélation génotype-phénotype

Résumé :

L'holoprosencéphalie (HPE) est une anomalie du développement cérébral accompagnée d'anomalies faciales. Elle est causée par un défaut de clivage du prosencéphale et se caractérise par un large spectre phénotypique en fonction du degré de séparation des hémisphères cérébraux (formes lobaire, semilobaire ou alobaire). Des formes moins sévères ont également été décrites, appelées microformes : comme des microcéphalies ou des troubles faciaux modérés sans malformation cérébrale typique, comme l'hypotélorisme ou une incisive médiane unique. Les patients affectés peuvent présenter une déficience intellectuelle et un retard psychomoteur, une épilepsie, un trouble de régulation thermique, et des anomalies endocrines, digestives et respiratoires.
Cette hétérogénéité phénotypique s'accompagne d'une hétérogénéité génotypique. En effet, 15 gènes ont été impliqués jusqu'à présent dans l'apparition de l'HPE, qui sont tous engagés dans la régulation de l'activité de Sonic Hedgehog (SHH). Le gène *SHH* code pour une molécule ventralisante sécrétée très précocement au cours du développement cérébral et conduisant, dans la partie ventrale antérieure du tube neural, à la différentiation de la ligne médiane. Un dysfonctionnement dans la signalisation Shh entraîne un phénotype HPE. Les études menées sur les modèles animaux montrent que la perturbation temporelle de la signalisation Shh est en corrélation avec la gravité des phénotypes holoprosencéphaliques : plus l'altération se produit tôt au cours du développement céphalique, plus le phénotype est sévère.
La voie de signalisation Notch a été associée à l'HPE, mais les mécanismes moléculaires impliquant Notch au cours du développement précoce du cerveau restent inconnus. Notre étude a été menée sur des modèles animaux inhibés pour la voie Notch. Des hybridations *in situ* sur des embryons *knock out* de souris pour l'effecteur de la voie Notch, RBPJ, ont permis de montrer qu'elle régulait l'expression de *SHH* dans la ligne médiane antérieure. Une inhibition chimique de la voie Notch chez le modèle poulet nous a permis d'affiner la fenêtre d'action pendant laquelle Notch régulait *Shh* dans la partie ventrale antérieure du tube neural, et de comprendre les mécanismes moléculaires mis en jeu dans cette régulation. Nous montrons que la régulation de *Shh* par Notch est tardive et qu'un défaut dans la signalisation de Notch conduit à un phénotype de type HPE modéré.
Ces résultats nous permettent de définir les mécanismes impliqués dans la variabilité phénotypique observée chez les patients HPE. En effet, la sévérité du phénotype de l'HPE dépend non seulement d'une diminution de la concentration de SHH mais également du stade embryonnaire auquel se met en place cette diminution.

P064 : Inhibition de la voie de l'acide arachidonique par des mutations de CYP2U1 dans la paraplégie spastique SPG56

Auteurs :

Christelle, M DURAND (1), Laura DHERS (2), Christelle TESSON (3), Alessandra TESSA (4), Laetitia FOUILLEN (5), Stéphanie JACQUERE (6), Laure RAYMOND (3), Isabelle COUPRY (6), Giovanni BENARD (6), Frédéric DARIOS (3), Khalid H EL-HACHIMI (3), Guja ASTREA (4), Claire PUJOL (3), Didier LACOMBE (6), Alexandra DURR (7), Patrick J BABIN (6), Filippo M SANTORELLI (4), Nicolas PIETRANCOSTA (2), Jean-Luc BOUCHER (2), Daniel MANSUY (2), Giovanni STEVANIN (8), Cyril GOIZET (6)

1. Laboratoire MRGM, Université de Bordeaux, Bordeaux, France
2. CNRS UMR8601, Université Paris descartes, Paris Sorbonne Cité, Paris, France
3. INSERM/UPMC UMR S975, Institut du Cerveau et de la Moelle épinière - INSERM U1127, Paris, France
4. Médecine Moléculaire, IRCCS Fondazione Stella Maris, Calambrone, Italie
5. CNRS UMR5200 - Laboratoire de Biogénèse Membranaire, Université de Bordeaux, Bordeaux, France
6. INSERM U1211 - Laboratoire MRGM, Université de Bordeaux, Bordeaux, France
7. Sorbonne Université, UPMC Université Paris VI, Paris, France
8. INSERM U1127, Institut du Cerveau et de la Moelle, Paris, France

Mots clefs : SPG56, CYP2U1, biological validation, arachidonic acid metabolism

Résumé :

Hereditary Spastic Paraplegias (HSPs) are a group of rare inherited disorders characterized by gradual spasticity and weakness of the lower limbs. These defects are the consequence of the retrograde degeneration of the cortico-spinal tracts. The pyramidal syndrome can occur alone in pure forms of HSP or associated with other neurological or extra neurological signs in complex forms. HSPs are transmitted according to all modes of inheritance and more than 70 genes have been identified.
SPG56 is a rare autosomal recessive early onset complicated form of HSP caused by mutation in *CYP2U1* gene. **CYP2U1** is a cytochrome P450 family 2 member which plays an important role in modulating the arachidonic acid (AA) signaling pathway and in the metabolism of long chain fatty acids. CYP2U1 metabolizes AA into two bioactive metabolites 19- and 20-HETE.
We identified several patients carrying either homozygous truncating mutation (p.L21Wfs*19[1]), and missense variations (p.D316V[1]; p.E380G[1] and p.C490Y[2]), or compound heterozygous (p.C262R associated to p.R488W and c.1288+1G>A associated to p.G115S and p.R384I[2]).
We developed an *in vitro* biochemical assay to determine the pathogenicity of missense variants of uncertain clinical significance (VUS class<5). To this end, wild type and 7 different mutated transcripts of CYP2U1 were transiently overexpressed in HEK293 cells. We then compared spectroscopic, enzymatic and structural (from a 3D model) characteristics of the over expressed wild type or mutated transcripts. The CYP2U1 dependent metabolism of arachidonic acid was measured by incubating protein extracts from transfected cells with arachidonic acid and analyzed by LC-MS. Five amino-acid substitutions, 4 VUS class4 and one VUS class3 (p.G115S, p.C490Y, p.D316V, p.R488W and p.C262R) led to a complete loss-of-function of CYP2U1 enzymatic activity towards AA hydroxylation. Moreover, the corresponding proteins did not behave as cytochromes P450, as they failed to exhibit a 450nm peak in UV-vis difference spectroscopy. Molecular modelling studies indicated that the p.Cys262Arg, p.Arg488Trp, and p.Cys490Tyr variants' inability to exist as cytochromes P450 would result from a lack of proper heme binding in the active site whereas in the case of the p.Gly115Ser and p.Asp316Val variants, it would result from the instability of the proteins. Variations p.R384I and p.E380G (VUS class 3) displayed an activity similar to that of CYP2U1WT and did not significantly modify the protein stability and its ability to correctly bind heme. They should be considered as benign (i.e VUS Class1).
In conclusion, by combining several approaches, we have set up, for the first time, an *in vitro* enzymatic assay allowing to validate the *in silico* suggested pathogenic status of 5 *CYP2U1* missense VUS and to move down 2 others. Our *in vitro* test could be used to explore the functional significance and corroborate pathogenicity of future variants identified in CYP2U1.

P065 : Bilan Lyonnais de 28 mois d'utilisation d'un panel de 450 gènes impliqués dans la déficience intellectuelle

Auteurs :

Audrey Labalme (1), Marie Faoucher (1), Jessica Michel (1), Pierre Antoine Rollat-Farnier (2), Sylvain Picard (2), Thomas Simonet (2), Claire Bardel (2, 3), Patrick Edery (1, 4), Massimiliano Rossi (1, 4), Alice Poisson (5), Lynda Pons (1), Audrey Putoux (1, 4), Marianne Till (1), Vincent des Portes (6), Nicolas Chatron (1, 4), Damien Sanlaville (1, 4), Gaëtan Lesca (1, 4)

1. Génétique, HCL, Lyon, France
2. Plateforme NGS, HCL, Lyon, France
3. Service de Biostatistique, HCL, Lyon, France
4. Centre de Recherche en Neurosciences de Lyon, INSERM U1028 ; CNRS UMR5292 ; UCBL1 ; TIGER Team, Lyon, France
5. GénoPsy CNRS UMR 5229, Centre Hospitalier le Vinatier, Lyon, Lyon, France
6. Service de Neuropédiatrie, HCL, Lyon, France

Mots clefs : déficience intellectuelle, séquençage haut débit

Résumé :

La Déficience intellectuelle (DI) décrite comme la capacité réduite de comprendre une information nouvelle ou complexe, et d'apprendre et d'appliquer de nouvelles compétences touche 1 à 3% de la population. Les causes sont multiples. Elles peuvent être acquises (toxiques, traumatiques, infectieuses…) ou génétiques. Du point de vue génétique, les causes de DI sont soit d'origine chromosomique (10 à 15% des cas) soit d'origine génique (15 à 25% des cas). Plus de 800 gènes ont déjà été impliqués dans la DI.
Récemment encore, chaque gène et chaque patient devait être étudié indépendamment. L'avènement du séquençage haut débit a permis l'analyse simultanée de plusieurs gènes et patients en parallèle augmentant considérablement le rendement diagnostique.
Nous présentons ici le bilan de 28 mois d'expérience de notre panel comprenant 450 gènes impliqués dans la DI. Le séquençage de ces gènes a été effectué sur un séquenceur Nextseq500 (Illumina®) en poolant les patients par 24. L'analyse bioinformatique a été réalisée par notre pipeline « maison » : Papillyon, basé sur les recommandations du Broad Institute. La profondeur moyenne obtenue est d'environ 150X.
328 patients ont été séquencés, 267 résultats ont été rendus parmi lesquels 70 variants de classe 4 ou 5 (probablement pathogènes ou pathogènes) correspondant à un taux diagnostique de 26.2%.
Les variants pathogènes les plus fréquents ont été identifiés dans les gènes : *SYNGAP1 (4), IQSEC2 (3), KMT2D (3), SCN2A (3), ADNP (2), ARID1B (2), CHD2 (2), KDM5C (2), NSD1 (2), SETD5 (2), TRIP12 (2), et UBE3A (2)*.
Seulement 9 variants de signification inconnue (3,4%) ont été mis en évidence : 3 variants *de novo* pour lesquels le phénotype du patient ne correspond pas à la pathologie décrite pour le gène, 2 sur le chromosome X, hérités de mères bien portantes, 1 variant faux-sens survenu *de novo* dans le dernier exon du gène *SHANK3*, 1 variant pour lequel l'étude parentale ne pourra pas être réalisée, et 1 variant hérité dans un gène à pénétrance incomplète et pour lequel les éléments cliniques ne sont pas discriminants.
Les résultats obtenus confirment l'efficacité diagnostique de ce panel. Dans la mesure où les nouvelles techniques de séquençage haut débit permettent d'identifier régulièrement de nouveaux gènes impliqués dans la DI, nous avons choisi, à l'avenir, plutôt que de redessiner notre panel de passer à l'étude de l'exome en diagnostic.

P066 : HIRA, un gène candidat au phénotype neurodéveloppemental du syndrome de microdélétion 22q11

Auteurs :

Médéric JEANNE (1, 2), Marie-Laure VUILLAUME (1, 2), Dévina UNG (2), Sandrine VONWILL (1), Damien HAYE (1), Nora CHELLOUG (1), Marie-Pierre MOIZARD (1), Sylviane MAROUILLAT (2), Frédéric LAUMONNIER (1, 2), Annick TOUTAIN (1, 2)

1. Service de Génétique, Centre Hospitalo-Universitaire de Tours, TOURS, France
2. Unité mixte de recherche INSERM 930, Université François Rabelais de Tours, TOURS, France

Mots clefs : microdélétion 22q11.2, déficience intellectuelle, HIRA, DiGeorge

Résumé :

Le syndrome de microdélétion 22q11 (SD22q11) autrement appelé syndrome de DiGeorge dans sa forme complète est le syndrome microdélétionnel le plus fréquent, touchant jusqu'à 1/2000 naissances. Les signes cliniques sont variables et associent entre autres, des malformations cardiaques, une hypoplasie du thymus et des parathyroïdes, un retard de développement psychomoteur, une déficience intellectuelle et des troubles psychiatriques. Aucun des 90 gènes de la région communément délétée de 3 mégabases n'explique entièrement le tableau clinique. En particulier, l'origine des anomalies neurodéveloppementales reste aujourd'hui spéculative. Nous proposons que le gène *HIRA* situé dans la région communément délétée, est responsable du phénotype neurodéveloppemental.
L'observation d'une fillette présentant une déficience intellectuelle et des particularités morphologiques faciales très évocatrices de SD22q11 associées à une délétion intragénique de novo d'*HIRA*, nous a conduits à étudier ce gène. *HIRA* intervient dans la régulation épigénétique de l'expression génique en contrôlant le dépôt d'histone H3.3 dans les nucléosomes. Il a été récemment mis en évidence qu'*HIRA* régule la neurogénèse chez la souris. Nous avons étudié par RT-qPCR, l'expression d'*HIRA* durant le développement cérébral, *in vitro* sur des cultures primaires de neurones de souris et *in vivo* sur des extraits de cerveau de souris à différentes étapes du développement cérébral. Ainsi, nous avons démontré qu'*HIRA* est fortement exprimé pendant la neuritogénèse. Afin d'évaluer l'impact de l'haploinsuffisance d'HIRA, nous avons utilisé une méthode de répression de l'expression par shRNA dans des cultures primaires de neurones de souris. Nous avons mis en évidence qu'une diminution d'expression de 56% d'*HIRA* entraine une altération majeure de la différenciation neuronale, en particulier au niveau de l'arborisation dendritique. Par ailleurs, nous avons étudié l'expression de deux gènes situés dans la région délétée et en dehors (*MRPL40* et *MYH9* respectivement) chez plusieurs témoins sains, chez plusieurs patients avec une délétion 22q11 classique et chez la patiente avec une délétion intragénique d'*HIRA*. Nous avons mis en évidence une dérégulation d'expression de ces deux gènes chez la patiente avec une délétion intragénique.
Nos données suggèrent fortement que le gène HIRA est responsable du phénotype neurodéveloppemental du SD22q11 et pourrait induire une dérégulation de l'expression génique participant à la variabilité d'expression.

P067 : Confirmation de l'implication d'ATP8A2 dans les ataxies cérébelleuses récessives

Auteurs :

Lise LARRIEU (1), Claire GUISSART (1), Ibrahim ONCEL (2), Haluk TOPALOGLU (2), Patrick CALVAS (3), Michel KOENIG (1)

1. Laboratoire de Génétique de Maladies Rares, , Institut Universitaire de Recherche Clinique, EA7402 Université de Montpellier, CHU Montpellier, 34093 Montpellier, Montpellier, France
2. Department of Pediatrics, , Hacettepe University, Ankara, Turkey, Ankara, Turquie
3. Departement de génétique clinique, Hôpital Universitaire de Purpan, Toulouse, France

Mots clefs : NGS, ataxie cérébelleuse, ATP8A2

Résumé :

Introduction:
Les mutations du gène *ATP8A2* sont responsables d'affections neurodégénératives de transmission autosomique récessive. Les signes neurologiques se caractérisent par une encéphalopathie avec ou sans hypotonie, associée à un retard psychomoteur, des mouvements anormaux, une chorée, des tremblements, une déficience intellectuelle, une atrophie optique et une atrophie cérébelleuse. Jusqu'à présent, seules 4 familles ont été décrites. Le premier cas porte une translocation équilibrée des chromosomes 10 et 13 *de novo* qui interrompt la séquence codante d'*ATP8A2*. Les trois autres familles ont des mutations faux-sens à l'état homozygote ou hétérozygote composite. Ces mutations sont situées dans le domaine catalytique cytoplasmique (acides aminés 364 à 877) adjacent au segment transmembranaire VI de ATP8A2. ATP8A2 est une ATPase transmembranaire de 1188 acides aminés transportant les phospholipides IB, et qui est impliquée dans la maintenance de la distribution asymétrique des phospholipides dans différentes membranes.
Méthode et Résultats :
Nous rapportons ici l'identification par séquençage d'exome de nouvelles mutations à l'état homozygote dans *ATP8A2* (NM_016529) dans deux familles consanguines. Ces deux mutations, situées dans l'exon 20 entraînent l'apparition de variations faux-sens (p.Gly585Val et p.Arg588Trp) prédites pathogènes. Les acides-aminés glycine585 et arginine588 sont conservés de l'homme à la levure.
La première fratrie originaire de Turquie porte la mutation p.Gly585Val à l'état homozygote; ils présentaient à l'âge d'un an une titubation, une démarche ataxique et des tremblements. Les deux enfants avaient des capacités intellectuelles limitées (QI: 70-80).
Dans la seconde famille originaire d'Algérie, la fille portant la mutation p.Arg588Trp présentait un retard d'acquisition de la marche, un déséquilibre, une hypotonie sévère, une dysmétrie, un nystagmus, une surdité moyenne et une atrophie cérébelleuse.
Ces trois patients étaient encore ambulants, avec aide unilatérale, entre 8 et 11 ans.
Conclusion:
Nous rapportons deux familles avec mutations du gène *ATP8A2* et présentant une forme moins sévère caractérisée par une ataxie cérébelleuse sans encéphalopathie. *ATP8A2* doit par conséquent être inclus dans les panels de criblage d'ataxie syndromique héréditaire. Il apparaît que toutes les mutations récessives identifiées à ce jour dans le gène *ATP8A2* sont des mutations faux-sens situées dans le domaine central de la protéine, ce qui suggère un mécanisme pathologique par perte de fonction partielle, indépendamment de la sévérité.

P068 : Importance des variations du nombre de copies (CNV) dans les pathologies autosomiques récessives rares : le modèle de la déficience intellectuelle associée aux variations pathogènes du gène TRAPPC9

Auteurs :

Jérémie Mortreux (1), Tiffany Busa (1), Dominique P. Germain (2), Gwenaël Nadeau (3), Jacques Puechberty (4), Christine Coubes (4), Vincent Gatinois (5), Pierre Cacciagli (6), Yannis Duffourd (7, 8), Fairouz Koraichi (9), Hélène Tevissen (10), Laurent Villard (6), Damien Sanlaville (11, 12), Nicole Philip (1, 6), Chantal Missirian (1, 6)

1. Département de Génétique Médicale, APHM, CHU Timone Enfants, Marseille, France
2. Department of Pediatrics, Head - Division of Medical Genetics, CHU Raymond Poincaré, Garches, France
3. UF de génétique, Centre hospitalier métropole Savoie, Chambéry, France
4. Département de Génétique Médicale, Maladies rares et Médecine Personnalisée, CHU de Montpellier, Montpellier, France
5. Laboratoire de Génétique Chromosomique, CHU de Montpellier, Montpellier, France
6. GMGF UMR_S 910, Aix Marseille Université, Marseille, France
7. Fédération Hospitalo-Universitaire Médecine Translationnelle et Anomalies du Développement (FHU TRANSLAD), CHU de Dijon et Université de Bourgogne-Franche Comté, Dijon, France
8. Equipe d'Accueil 42271, Génétique des Anomalies du Développement, Université de Bourgogne, Dijon, France
9. Department of Pediatrics, Head - Division of Medical Genetics, CHU Raymond Poincaré, garches, France
10. Service de pédiatrie, CH de Valence, Valence, France
11. Department of Genetics, Lyon University Hospitals, Lyon, France
12. CNRS UMR5292, INSERM U1028, Lyon Neuroscience Research Centre, Lyon, France

Mots clefs : CNV , déficience intellectuelle , hétérozygote composite , récessif , ACPA , TRAPPC9 , variation pathogène

Résumé :

Ces dernières années, de nombreux gènes responsables de formes autosomiques récessives de déficience intellectuelle ont été identifiés à l'aide du séquençage d'exome ou de génome dans des familles consanguines. Des mutations dans le gène *TRAPPC9* ont été rapportées dans huit familles consanguines provenant de différentes origines géographiques, permettant la caractérisation d'un phénotype associé. Les patients atteints présentent une DI sévère, des troubles du langage, une microcéphalie, une obésité, un développement moteur normal et des anomalies cérébrales. Nous rapportons six nouveaux patients recrutés au travers d'un réseau national collaboratif. Pour deux patients hétérozygotes pour une variation du nombre de copie (CNV), le phénotype était concordant avec les données de la littérature et a conduit à la recherche et à l'identification d'une mutation sur l'autre allèle. Le troisième patient était homozygote pour un CNV intragénique dans le gène *TRAPPC9*. Le phénotype des patients était concordant avec la littérature. Des publications récentes ont souligné le rôle des CNV dans l'étiologie de maladies récessives. Cette étude montre que les CNV contribuent significativement au spectre mutationnel du gène *TRAPPC9* et confirme l'intérêt de combiner l'exome à l'analyse des CNV pour réaliser un diagnostic moléculaire chez des patients avec des maladies mendéliennes rares.

P069 : Anomalies cérébrales spécifiques dans le syndrome Kabuki par IRM anatomique et fonctionnelle.

Auteurs :

Jennifer Boisgontier (1, 2), Natacha Lehman (3), Jean-Marc Tacchella (1, 2), Elise Schaefer (4), Laurence Faivre (5), Odile Boute (6), Marlène Rio (7), Vincent Gatinois (8), guilaine Boursier (9), Elodie Sanchez (3), Geneviève Baujat (10), Kim-hanh Le Quan Sang (10), Damien Sanlaville (11), Stanislas Lyonnet (7), Hervé Lemaitre (1, 2), Ana Riva Baggio Saitovitch (1, 2), Monica Zilbovicius (1, 2), Nathalie Boddaert (1, 2), David Geneviève (3)

1. UMR 1000 "Imagerie et Psychiatrie" INSERM, , Université Paris Sud, France, Paris, France
2. UMR 1163 "Imagine", INSERM, , Université Paris Descartes, ComUE Sorbonne Paris Cité, Paris, France. , Paris, France
3. Département de Génétique Médicale, Maladies Rares et Médecine Personnalisée, Génétique cliniqu, CHU Montpellier, Université Montpellier, Centre de référence anomalies du développement SORO. Unité Inserm U1183, Montpellier, France
4. Service de génétique clinique,, CHU Haute Pierre, Strasbourg, strasbourg, France
5. Service de génétique clinique,, CHU Dijon, Dijon, France
6. Service de génétique clinique, , CHU Jeanne de Flandre, Lille, Lille, France
7. Service de génétique clinique,, Institut IMAGINE, Hôpital Necker enfants Malades, Paris, Paris, France
8. Département de Génétique Médicale, Maladies Rares et Médecine Personnalisée, laboratoire de génétique chromosomique, , CHU Montpellier, Université Montpellier., Montpellier, France
9. Département de Génétique Médicale, Maladies Rares et Médecine Personnalisée, laboratoire de génétique moléculaire, UMAI et maladies rares, , CHU Montpellier, Université Montpellier, Montpellier, France
10. Service de génétique clinique, , Institut IMAGINE, Hôpital Necker enfants Malades, Paris, Paris, France
11. laboratoire de génétique chromosomique,, HFME, CHU Lyon, Lyon, France

Mots clefs : Kabuki syndrome, KMT2D, IRM fionctionnelle, VBM, Diffusion et Perfusion, mémoire, hipoccampes, aire brodman moteur,

Résumé :

Le syndrome Kabuki (SK OMIM 147920 et OMIM 300867) est une maladie génétique rare (1/32 000) défini par cinq critères : variations morphologiques faciales permettant d'évoquer le diagnostic, anomalies dermatoglyphiques et squelettiques, déficience intellectuelle légère à modérée et retard de croissance post natal. En dehors de ces 5 manifestations, de nombreux autres symptômes peuvent être observés tels malformations cardiovasculaires, rénales et vertébrales, sensibilité aux infections et/ou autoimmunité, anomalies visuels ou auditives, épilepsie, etc (Niikawa et al., 1981). À ce jour, 2 gènes majeurs sont responsables du SK. KMT2D, est muté dans 34% à 76% de patients avec SK alors que KDM6A, a été rapportée chez moins de 6% des patients (Bögershausen et al., 2016).
À l'exception de la description d'un patient avec atrophie du cerveau et du cervelet (Yano et al., 1997), et d'un autre patient avec dysplasie corticale perisylvienne (Takano et al., 2010), il existe très peu d'informations disponibles concernant l'imagerie cérébrale dans le SK.
En utilisant des techniques d'IRM multimodale, nous avons effectué une étude anatomique et fonctionnelle complète du cerveau chez 6 patients avec SK et mutation *KMT2D,* en les comparants avec 30 témoins appareillés en âge et en sexe. Les anomalies anatomiques ont été évaluées par morphométrie basée sur les voxels (VBM) afin de comparer les différences de matière grise et blanche (MG et MB) entre patients SK et sujets sains. Nous avons ensuite étudié d'éventuelles anomalies fonctionnelles par méthode ASL (arterial spin labelling) en recherchant des différences de flux sanguin cérébral (FSC) au repos entre les patients avec SK et les témoins. Nous avons mis en évidence une diminution de la MG dans le cortex prémoteur droit (Aire de Brodmann AB-6, région critique responsable de l'orientation sensorielle, de l'initiation des mouvements) et une diminution du FSC dans le cortex préfrontal dorsolateral gauche (AB-9, région motrice, impliquée dans l'organisation, la planification et la régulation du mouvement) pouvant expliquer les difficultés de motricité fine et l'atténuation/disparition des plis de flexion des inter phalangiennes des plis des doigts (Michot et al, 2013). Nous avons également mis en évidence une diminution statistique de la taille des hippocampes chez les patients avec syndrome Kabuki comme observé dans le modèle murin (*Kmt2d* +/βGeo; Bjornsson et al., 2014). Néanmoins, les résultats des bilans psychomoteurs des 6 enfants avec syndromes Kabuki ne sont pas en faveur d'un trouble de la mémoire (meilleurs performances en mémoire de travail et compréhension verbale; Lehman et al, 2016). Des investigations plus poussées sur la mémoire chez les patients avec SK doivent donc être menées afin de comprendre cette discordance entre l'imagerie et les tests psychométriques et peut-être dévoiler de nouveaux éléments de la physiopathologie de la mémoire chez l'homme.
Remerciement à l'Association Syndrome Kabuki

P070 : Implication du récepteur GABAB dans la déficience intellectuelle : identification d'une nouvelle mutation de novo dans le gène GABBR2 par Whole Exome Sequencing.

Auteurs :

Marie-Laure Vuillaume (1, 2), Médéric Jeanne (1, 2), Sophie Blesson (1), Anne-Sophie Denommé-Pichon (3, 4), Lie Xue (5), Servane Alirol (2), Céline Brulard (2, 6), Estelle Colin (3, 4), Bertrand Isidor (7, 8), Brigitte Dussardier (9), Sylvie Odent (10, 11), Philippe Parent (12), Audrey Donnart (13), Richard Redon (14), Stéphane Bézieau (15, 16), Philippe Rondard (17), Frédéric Laumonnier (1, 2), Annick Toutain (1, 2)

1. Service de Génétique, CHU de Tours, Tours, France
2. UMR_INSERM U930, Université François Rabelais, Tours, France
3. Service de Génétique, CHU d'Angers, Angers, France
4. UMR INSERM 1083-CNRS 6015, Faculté de Médecine, Angers, France
5. Institut de Génomique Fonctionnelle (IGF), CNRS UMR5203 - INSERM U1191, Université de Montpellier, Montpellier, France
6. Plateforme Biologie Moléculaire des Cancers, CHU de Tours, Tours, France
7. Service de Génétique, CHU de Nantes, Nantes, France
8. INSERM UMR-S 1238, Université de Nantes, Nantes, France
9. Service de Génétique, CHU de Poitiers, Poitiers, France
10. Service de Génétique Clinique, CHU de Rennes, Rennes, France
11. CNRS UMR 6290 IGDR, Université de Rennes 1, Rennes, France
12. Génétique Médicale, CHU de Brest, Brest, France
13. INSERM CNRS, Université de Nantes, CHU de Nantes, Nantes, France
14. INSERM CNRS, Université de Nantes, CHU de Nantes, l'Institut du Thorax, Nantes, France
15. Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU de Nantes, Nantes, France
16. CRCINA INSERM, Université de Nantes, Nantes, France
17. Institut de Génomique Fonctionnelle (IGF), CNRS UMR5203 - INSERM U1191- , Université de Montpellier, Montpellier, France

Mots clefs : Déficience intellectuelle, GABBR2, mutations, faux-sens, de novo, Whole Exome Sequencing, récepteur GABAB, phénotype Rett-like

Résumé :

L'acide γ-aminobutyrique, GABA, est le principal neurotransmetteur inhibiteur du système nerveux central, chez l'homme, à l'âge adulte. Ce neurotransmetteur active les récepteurs ionotropes, $GABA_A$, et métabotropes, $GABA_B$. Le récepteur $GABA_B$ est formé de deux sous-unités $GABA_{B1}$ et $GABA_{B2}$ qui s'hétérodimérisent. En conditions normales, la liaison du neurotransmetteur GABA au domaine extracellulaire « Venus fly trap » de la sous-unité $GABA_{B1}$ entraîne un changement de conformation du récepteur puis le recrutement et l'activation des protéines G et des voies de signalisation en aval responsables de l'inhibition neuronale. Certains modulateurs allostériques synthétiques peuvent également se lier au domaine transmembranaire de la sous-unité $GABA_{B2}$ et potentialiser l'effet du neurotransmetteur GABA augmentant ainsi l'inhibition neuronale. Jusqu'à présent, la majorité des anomalies génétiques du système GABAergique ont été retrouvées au niveau du récepteur ionotrope $GABA_A$. Récemment, trois mutations faux-sens, *de novo,* ont été identifiées dans le récepteur $GABA_B$ au niveau de la sous-unité $GABA_{B2}$ codée par le gène *GABBR2*. Deux de ces mutations, situées au niveau du 6ème domaine transmembranaire de la sous-unité $GABA_{B2}$, ont été rapportées chez deux enfants présentant une encéphalopathie épileptique. Une mutation récurrente localisée au niveau du 3ème domaine transmembranaire a également été rapportée chez 5 patients présentant un phénotype de type Rett sans épilepsie. Certains auteurs ont suggéré que la sévérité du phénotype serait corrélée à l'activité du récepteur et à la position de la mutation. Néanmoins, nous avons identifié, par séquençage de l'exome, une nouvelle mutation faux-sens, *de novo,* dans le gène *GABBR2*, qui, bien que située dans le 6ème domaine transmembranaire de la sous-unité $GABA_{B2}$ est retrouvée chez une patiente présentant plutôt un phénotype de type Rett avec une déficience intellectuelle sévère sans épilepsie. Cette mutation, c.2119G > A, p.(Ala707Thr), absente dans les bases de données contrôles (Gnomad, Exac, dbSNP), affecte un nucléotide et un acide aminé très conservés et est prédite pathogène par les logiciels de prédiction *in silico* (*SIFT, Mutation Taster, Polyphen 2*). Du fait de sa localisation, elle pourrait perturber la liaison du récepteur aux modulateurs allostériques et entraîner un défaut de signalisation en aval du récepteur. Afin d'élucider son mécanisme d'action et son impact sur l'activité du récepteur, nous conduisons actuellement des expériences *in vitro* en mesurant l'activité du récepteur via des effecteurs secondaires après co-transfection des sous-unités $GABA_{B1}$ et $GABA_{B2}$ sauvage et mutées dans des cellules HEK-293. Ces résultats élargissent le spectre mutationnel de *GABBR2* et renforcent l'implication du récepteur $GABA_B$ dans la déficience intellectuelle sévère. Ils démontrent également l'importance des tests fonctionnels pour établir des corrélations génotype/phénotype précises.

P071 : Variabilité phénotypique liée aux délétions en mosaïque du gène TCF4 impliqué dans le syndrome de Pitt-Hopkins

Auteurs :

Delphine Héron (1), Stephanie Arpin (2), Damien Haye (3), Dominique Martin-Coignard (4), Nicolas Gruchy (5), Camille Louvrier (6), Nora Chelloug (7), Shara Grotto (8), Nathalie Le Du (9), Thierry Gaillon (10), Bruno Copin (11), Valérie Nau (12), Boris Keren (13), Sandra Chantot-Bastaraud (14), Serge Amselem (15), Irina Giurgea (16)

1. Service de génétique clinique, Pitié-Salpêtrière, paris, France
2. Génétique clinique, Hopital Bretonneau, Tours, France
3. Département de Génétique, Hopital Trousseau, paris, France
4. Génétique, CH Le Mans, le Mans, France
5. Génétique, CHU de Caen, Caen, France
6. Génétique , Hôpital Trousseau, paris, France
7. Génétique, Hopital Bretonneau, paris, France
8. Génétique, Hôpital Robert-Debré, Paris, France
9. génétique, Hôpital Cochin, paris, France
10. Génétique, Hopital Mondor, Créteil, France
11. génétique, hopital trousseau, paris, France
12. génétique, Hopital Trousseau, paris, France
13. Génétique, Pitié-Salpêtrière, paris, France
14. Cytogénétique, Hôpital Trousseau, paris, France
15. Génétique, Hôpital Trousseau, Paris, France
16. U.F. de Génétique moléculaire, Hôpital Armand Trousseau, Paris, France

Mots clefs : Déficience intellectuelle, délétions en mosaïque, TCF4, syndrome de Pitt-Hopkins

Résumé :

Le syndrome de Pitt-Hopkins (PTHS) associe une déficience intellectuelle sévère, des troubles de la ventilation, des stéréotypies et un faciès particulier. Le gène responsable, *TCF4* (Transcription Factor 4), code un facteur de transcription à domaine bHLH (basic helix-loop-helix) appartenant à la famille des E-protéines. Les patients atteints de PTHS portent à l'état hétérozygote, des délétions emportant tout ou une partie du gène *TCF4,* des mutations tronquantes ou des mutations faux-sens localisées dans le domaine bHLH, le plus souvent survenues *de novo.* A travers des études en FISH et en CGHa nous et d'autres équipes avons déjà rapporté quatre cas de délétions en mosaïque de grande taille (> 7.5 Mb) emportant *TCF4* mais également de nombreux autres gènes de la région 18q21. Aujourd'hui, le séquençage de nouvelle génération nous permet d'identifier des délétions en mosaïque de petite taille, intragéniques. Nous rapportons ici quatre nouveaux individus indépendants porteurs de quatre délétions distinctes en mosaïque de *TCF4* identifiées dans le sang périphérique, validées par deux techniques différentes. Le taux de mosaïcisme varie d'un individu à un autre et a été évalué entre 10 et 30%. La taille des délétions est également différente, emportant seulement quelques exons de *TCF4* chez deux patients (40 Kb et 246 Kb) ou la totalité du gène chez les deux autres (6 Mb et 8.6 Mb). L'individu porteur de la plus petite délétion (40 kb, 2 exons) avec un mosaïcisme estimé à environ 20% est asymptomatique, mais il est père de deux enfants atteints de PTHS. Le second patient dont la délétion est estimée à environ 30%, emportant la région 5' et les trois premiers exons du gène, a un phénotype évocateur de PTHS. Les deux autres patients portant des délétions de grande taille (6 Mb et 8.6 Mb) avec un mosaïcisme estimé à 10% et 20% présentent une déficience intellectuelle sévère et certains signes cliniques de PTHS. Afin d'explorer les relations entre génotype et phénotype, nous avons évalué les données suivantes chez les quatre individus de cette étude et chez les patients rapportés dans la littérature porteurs d'une anomalie moléculaire en mosaïque de *TCF4*: le degré de mosaïsme, la taille et la localisation de la délétion, et la sévérité de la déficience intellectuelle et des critères cliniques de PTHS. En conclusion, nous rapportons quatre nouvelles délétions en mosaïque de *TCF4* et discutons les données moléculaires, le spectre phénotypique, et les techniques de détection et de validation des anomalies moléculaires en mosaïque.

Giurgea-Assises 2018.doc

P072 : Identification d'une microdélétion emportant FLI1 et ETS1 en 11q24.3 dans une famille présentant un tableau proche du syndrome de Jacobsen sans déficience intellectuelle

Auteurs :

Solène Conrad (1), Kamran Moradkhani (1), Olivier Pichon (1), Cédric Le Caignec (1), Cécile Pascal (2), Caroline Thomas (3), Mathilde Nizon (1)

1. Service de génétique médicale, CHU Nantes, Nantes, France
2. Service de Cardiologie pédiatrique et fœtale, Hôpital privé du Confluent, Nantes, France
3. Service d'Hémato-oncologie pédiatrique, CHU Nantes, Nantes, France

Mots clefs : Syndrome de Jacobsen, FLI1, ETS1

Résumé :

Le syndrome de Jacobsen est associé à une délétion de la partie distale du bras long du chromosome 11. La taille de la délétion est variable, habituellement comprise entre 7 et 20Mb. Ce syndrome est défini par l'association d'une déficience intellectuelle, d'une dysmorphie faciale évocatrice et d'anomalies hématologiques (syndrome de Paris-Trousseau). Des malformations diverses peuvent y être associées (cardiaques, rénales, digestives, membres), ainsi qu'un retard de croissance pré-et post-natal.
Nous décrivons ici une patiente adressée en consultation de génétique à l'âge de 6 semaines pour une malformation du pied gauche (hypoplasie des orteils) associée à une communication inter-ventriculaire (CIV). Elle présente une dysmorphie faciale évocatrice du syndrome de Jacobsen avec un front haut, un hypertélorisme, un télécanthus, un ptosis, une racine du nez plate avec pointe bulbeuse et des oreilles petites et mal ourlées. Sur le plan hématologique, on note une thrombopénie et une lymphopénie modérées. Le développement psychomoteur est normal. Dans ses antécédents, on note que son grand-père maternel présente une thrombopénie et que sa mère présente une thrombopénie, une CIV et un ptosis congénital unilatéral avec strabisme.
L'analyse chromosomique par la technique de CGH-array a mis en évidence une délétion interstitielle de 700kb en 11q24.3, héritée de sa mère. Cette délétion emporte les gènes *FLI1* et *ETS1*, candidats pour être respectivement responsables du syndrome de Paris-Trousseau (thrombopathie avec thrombopénie) pour *FLI1* et de malformations cardiaques pour *ETS1*. Un modèle murin précédemment décrit, double hétérozygote pour *Fli1* et *Ets1*, a reproduit certaines anomalies du syndrome de Jacobsen dont une thrombopénie, des anomalies cardiaques et des modifications du massif facial.
Nous présentons donc la plus petite délétion connue chez l'homme dans la région du syndrome de Jacobsen, emportant uniquement deux gènes *FLI1* et *ETS1,* et associée aux anomalies morphologiques, hématologiques et cardiaques décrites dans le syndrome de Jacobsen. Ce résultat permet de confirmer l'implication majeure de ces deux gènes dans le phénotype associé au syndrome de Jacobsen. Il est également utile pour le conseil génétique notamment en cas de découverte prénatale, étant donné le pronostic rassurant sur le plan du développement intellectuel. Il permet également d'exclure la responsabilité de ces deux gènes concernant la déficience intellectuelle dans le syndrome de Jacobsen.

P073 : Analyse du gène PRRT2 : bilan de 4 ans d'expérience d'analyse chez des patients avec suspicion de dyskinésies paroxystiques, d'ataxies épisodiques ou de migraine hémiplégique

Auteurs :

Florence RIANT (1), Jessica HADJHADJ (1), Agathe ROUBERTIE (2, 3), Christian DENIER (4), Giovani CASTELNOVO (5), Jean Christophe CUVELLIER (6), Anne ROLLAND (2), Elisabeth TOURNIER-LASSERVE (7)

1. Génétique Moléculiare Neurovasculaire, Hôpital Lariboisière, Paris, France
2. Neuropédiatrie, Hôpital Gui de Chauliac, Montpellier, France
3. INSERM U1051, Institut des Neurosciences, Montpellier, France
4. Neurologie, Hôpital Bicêtre, Le kremlin-Bicêtre, France
5. Neurologie, Hôpital Carémeau, Nimes, France
6. Neuropédiatrie, Hôpital Roger Salengro, Lille, France
7. Genetique Moléculiare Neurovasculaire, Hôpital Lariboisière, Paris, France

Mots clefs : PRRT2, dyskinésies paroxystiques, ataxie épisodique, migraine hémiplégique

Résumé :

Introduction : Depuis la mise en évidence d'altérations du gène PRRT2 dans les dyskinésies paroxystiques en 2012, l'implication de ce gène n'a cessé de prendre de l'importance : des mutations de PRRT2 sont responsables de dyskinésies paroxystiques kinésigéniques (PKD), d'épilepsie infantile bénigne familiale (BFIE), de convulsions infantiles et choréo-athétose (ICCA), de migraine hémiplégique (MH), de torticolis paroxystique bénin (TPB) et d'ataxie épisodique (EA). Nous rapportons l'expérience du laboratoire de Génétique Moléculaire de l'Hôpital Lariboisière dans le criblage de patients envoyés pour analyse moléculaire dans le cadre du diagnostic de mouvements anormaux paroxystiques (ataxies épisodiques ou dyskinésies paroxystiques) ou de migraine hémiplégique depuis 4 ans.
Patients : 305 patients envoyés pour suspicion d'EA, 83 patients envoyés pour suspicion de PKD, 23 patients envoyés dans le cadre d'épisodes de dystonie et 571 patients envoyés pour suspicion MH et ont été testés pour PRRT2 entre 2014 et 2017 (séquençage et QMPSF).
Mutations : Une mutation du gène PRRT2 a été identifiée chez 50 patients index : 32 avec suspicion de PKD (dont 1 avec association MH), 10 pour diagnostic de MH, 5 avec suspicion d'ataxie épisodique et 2 pour épisodes de dystonie. 48 patients avaient une mutation de PRRT2 hétérozygote (33 mutations stop, 6 mutations faux-sens et 3 délétions complètes) et 2 patients avaient 2 allèles PRRT2 mutés (mutation stop homozygote chez l'un et association d'une mutation stop avec délétion complète de l'autre allèle chez l'autre).

Particularités cliniques des patients non PKD
Les patients envoyés pour suspicion de MH ne présentaient pas de particularité notable par rapport aux patients mutés dans les autres gènes de MH (CACNA1A, ATP1A2, SCN1A).
Chez les patients envoyés pour suspicion d'EA : un enfant présentait un retard de développement, une épilepsie et une ataxie (mutation hétéro composite), un homme de 42 ans présentant une épilepsie et des épisodes d'instabilité, une femme de 31 ans présentant des épisodes d'ataxie longs (son frère avait des mouvements anormaux), un enfant de 7 mois présentait des convulsions fébriles (notion d'ataxie chez sa sœur), un patient présentait des épisodes de torticolis et de dystonie du MSD.
Chez les patients envoyés pour épisodes de dystonie : un enfant présentait des troubles des apprentissages et un retard de langage (délétion complète) et un enfant présentait une dyskinésie paroxystique, une épilepsie et un retard psychomoteur (mutation homozygote).

Conclusion
Le type de mutation ne présage pas de l'expression (MH, EA ou PKD) mais les grandes délétions sont associées à des troubles des apprentissages dans notre série.
Les mutations homozygotes ou hétérozygotes composites entrainent des présentations sévères.
Il est important de rechercher les délétions complètes du gène PRRT2.
La connaissance des manifestations cliniques chez les apparentés aide pour l'orientation de la demande diagnostique.

P074 : Séquençage Sanger des régions introniques et des régions non traduites (5'UTR et 3'UTR) du gène GRN chez 4 patients atteints de dégénérescence lobaire fronto-temporale avec une progranulinémie abaissée

Auteurs :

Isabelle DAVID (1), Seif-Maximilien SAIM (1), Foudil LAMARI (2), Guillaume BANNEAU (1), Cécile CAZENEUVE (1), Eric LEGUERN (1, 3), Isabelle LE BER (3, 4), Fabienne CLOT (1, 4)

1. UF de Neurogénétique Moléculaire et Cellulaire, Département de Génétique, AP-HP, Hôpitaux Universitaires La Pitié Salpêtrière-Charles Foix, Paris, France
2. Service de Biochimie Métabolique, AP-HP, Hôpitaux Universitaires La Pitié Salpêtrière-Charles Foix, Paris, France
3. INSERM UMRS_1127-CNRS UMR7225-UPMC, ICM (Institut du Cerveau et de la Moelle épinière), Paris, France
4. Centre de Référence des démences rares, AP-HP, Hôpitaux Universitaires La Pitié Salpêtrière-Charles Foix, Paris, France

Mots clefs : Diagnostic moléculaire, DLFT, séquençage Sanger, introns, 5'UTR, 3'UTR

Résumé :

L'Unité Fonctionnelle de Neurogénétique Moléculaire et Cellulaire propose le diagnostic moléculaire des Dégénerescences Lobaires Fronto-Temporales (DLFT). Les DLFT sont des maladies neurodégénératives rares, qui affectent les lobes frontaux et temporaux du cortex cérébral, entraînant des troubles du comportement et du langage. Des mutations du gène de la progranuline (*GRN*) sont responsables d'une forme autosomique dominante de DLFT. Les patients porteurs des mutations *GRN* sont caractérisés par une baisse du taux de leur progranuline plasmatique. Actuellement, l'analyse moléculaire du gène *GRN* est réalisée par séquençage SANGER des 13 exons du gène, ainsi que de leurs régions flanquantes, chez un patient atteint de DLFT si son taux plasmatique de progranuline est ≤ 80 ng/ml. Si aucune mutation ponctuelle n'est identifiée, la recherche de grands réarrangements est réalisée par MLPA (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification) ou QMPSF (Quantitative Multiplex PCR of Short Fluorescent Fragments). Dans notre cohorte de patients atteints de DLFT avec un taux abaissé de progranuline plasmatique, nous avons identifié 4 patients qui ne sont ni porteurs de mutation ponctuelle, ni porteurs de grand réarrangement. Afin de rechercher d'éventuelles mutations qui pourraient altérer un site d'épissage, affecter la régulation de la transcription ou la stabilité de l'ARNm, nous avons séquencé chez ces 4 patients, les parties non-codantes du gène *GRN :* 5'UTR (639pb), 3'UTR (443 pb) et tous les introns du gène.
Parmi les variants identifiés, seul un variant présente un intérêt. Il s'agit du variant c.1179+86G > A dans l'intron 10 du gène *GRN*. Ce variant n'est pas répertorié dans les bases de données du polymorphisme humain et les logiciels de prédiction indiquent une forte augmentation des scores d'un site cryptique donneur de l'intron 10.
En accord avec le patient porteur du variant c.1179+86 G > A de l'intron 10, un prélèvement de biopsie de peau sera réalisé afin d'étudier le transcrit du gène dans les fibroblastes après culture. En effet, si le site cryptique donneur est préférentiellement utilisé à celui du site donneur constitutif, une rétention de l'intron 10 pourrait survenir, entrainant un transcrit anormal et une absence de synthèse de la protéine, expliquant la progranulinémie abaissée chez ce patient.
Concernant les 3 autres patients non porteurs de variants pathogènes, les régions 5' et 3' UTR et l'intron 1 du gène *GRN* n'ayant pu être séquencés dans leur totalité, on ne peut pas exclure l'existence d'une mutation dans ces parties non explorées du gène. L'étude du transcrit du gène dans les fibroblastes devra donc être réalisée chez ces 3 patients afin de rechercher la présence d'un transcrit anormal.
La recherche de mutations dans les introns profonds du gène *GRN* pourra être proposée en seconde intention chez les patients atteints de DLFT avec une progranulinémie abaissée et non porteurs de mutation ponctuelle ou de grand réarrangement du gène *GRN*.

P075 : Diagnostic moléculaire par séquençage haut débit de patients atteints de rétinite pigmentaire autosomique récessive

Auteurs :

Béatrice BOCQUET (1), Corinne BAUDOIN (2), Thibault FESQUET (2), Lola SAGOT (3), Joévin BARRIER (3), Charline AUBRY (3), Gaël MANES (1), Isabelle MEUNIER (2)

1. INSERM U1051 - Institut des Neurosciences de Montpellier, , MONTPELLIER, France
2. Centre National de Référence Maladies Rares Maolya, , MONTPELLIER, France
3. U1051, INSERM , Montpellier, France

Mots clefs : Maladies monogéniques - Rétinites pigmentaires autosomiques récessives - Séquençage NGS(NextGenerationSequencing) - Enrichissement par 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 : 61 gènes 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 110 gènes décrits dans la base de données RetNet (https://sph.uth.edu/retnet/) ont été séquencés par NGS après enrichissement par MIP chez 188 cas probants de familles arRP ou de cas simplex. Les variants obtenus après filtre bioinformatique ont été recherchés dans les bases de données publiques HGMD, dbSNP, LOVD ou EXAC et la pathogénicité des changements d'acides aminés testée grâce aux logiciels PolyPhen-2, SIFT, Mutation taster et aGVGD. Les mutations d'épissage ont été testées grâce au logiciel SpliceSiteFinder. Les mutations sont ensuite vérifiées par séquençage Sanger et une analyse familiale est effectuée le cas échéant.
Résultats : Sur les 188 patients testés, 137 (73%) présentent une ou plusieurs mutations dans les gènes connus. Sur ces 137 patients, 3 hommes présentent une mutation déjà décrite dans des gènes de RP liée à l'X. De la même façon, 13 patients portent des mutations hétérozygotes de gènes responsables de RP dominantes autosomiques (*CRX, SNRNP200, PRPF31*…). Sur les 172 patients restants ayant donc une arRP présumée, 74% ont des mutations de gènes connus pour les arRPs dont 18% dans les gènes *USH2A* (13%) et *EYS* (5%) et 9% dans des gènes responsables de formes sévères (*LCA5*, *RDH12*, *AIPL1*).
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, 6,9 % des patients de la cohorte initiale sont des formes dominantes autosomiques avec pénétrance variable ou liées à l'X, ce qui doit inciter à la plus grande prudence pour le conseil génétique des formes sporadiques qui représentent 45% des RPs. Les patients n'ayant qu'une seule ou aucune mutation causale bénéficieront prochainement d'une analyse des CopyNumberVariations. Les patients négatifs seront finalement analysés par Whole Exome Sequencing.

P076 : Coexistence d'une schwannomatose et d'un glioblastome dans deux familles non apparentées

Auteurs :

Caroline DEILLER (1), Béatrice PARFAIT (2, 3), Julie TINAT (1), Hugues LOISEAU (4), Julien VAN-GILS (1), Thierry FABRE (4), Claire DELLECI (5), Joëlle COHEN (2), Michel VIDAUD (2, 3), Cyril GOIZET (1, 6), Cécile ZORDAN (1)

1. Génétique Médicale, CHU Bordeaux, Bordeaux, France
2. Génétique et Biologie Moléculaires, Hôpital Cochin, APHP, Paris, France
3. 7EA7331, Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, Faculté de Pharmacie de Paris, Paris, France
4. Neurochirurgie, CHU Bordeaux, Bordeaux, France
5. Médecine Physique et de Réadaptation, CHU Bordeaux, Bordeaux, France
6. Laboratoire MRGM, INSERM U1211, université de Bordeaux 2, Bordeaux, France

Mots clefs : génétique, schwannomatose, neurofibromatose, glioblastome

Résumé :

La schwannomatose est une affection génétique rare prédisposant au développement de tumeurs neurologiques périphériques multiples, les schwannomes. Environ un tiers des patients atteints de schwannomatose portent une mutation constitutionnelle du gène *LZTR1* (Leucin Zipper Transcription Regulator 1). La tumorigenèse dans la schwannomatose suit un modèle mutationnel somatique en 5-hit/3-step entrainant une perte de fonction de *LZTR1* et des gènes contigus du locus 22q11.2q12.2 : *SMARCB1,* également impliqué dans la schwannomatose et *NF2,* responsable de la neurofibromatose de type 2. Le mécanisme en 5-hit/3-step implique une mutation constitutionnelle perte de fonction du premier allèle de *LZTR1*, suivie de deux événements somatiques : la perte d'hétérozygotie du locus 22q11.2q12.2 avec la délétion emportant *LZTR1*, *SMARCB1* et *NF2*, et une mutation acquise de *NF2* sur le premier allèle. Au niveau somatique, les mutations de *LZTR1* sont impliquées, avec une fréquence significative, dans le développement de glioblastomes. via une perte de fonction biallélique de *LZTR1*.
Nous rapportons ici deux familles dans lesquelles ségrégent à la fois des schwannomes multiples et un glioblastome. Dans chaque famille, un cas index avec une schwannomatose liée à une mutation de *LZTR1* a un apparenté du premier degré décédé d'un glioblastome apparemment isolé. L'analyse moléculaire ciblée du gène *LZTR1* du glioblastome chez les apparentés des deux familles a montré la présence de la mutation familiale. Ces observations suggèrent donc un lien potentiel entre schwannomatose et risque de glioblastome.

P077 : Intérêt du Séquençage à haut débit dans une cohorte de patients déficients intellectuels adultes

Auteurs :

Isabelle MAREY (1, 2), Caroline NAVA (3, 2), Solveig HEIDE (4, 2), Cyril MIGNOT (1, 5), Sandra WHALEN (6, 7), Damien HAYE (1, 8), Alexandra AFENJAR (6, 9), Julien BURATTI (3), Valerie OLIN (3), elodie LEJEUNE (3), Sabina KARAGIC (3), Delphine HERON (4, 2), Boris KEREN (3, 2)

1. UF de génétique médicale, , Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Département de Génétique, 75013, Paris, France., PARIS, France
2. Centre de Référence "déficiences intellectuelles de causes rares", , AP-HP, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Département de Génétique, 75013, Paris, France, PARIS, France
3. UF de génomique du développement, AP-HP, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Département de Génétique, 75013, Paris, France, PARIS, France
4. UF de génétique médicale, , AP-HP, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Département de Génétique, 75013, Paris, France, PARIS, France
5. Centre de Référence "déficiences intellectuelles de causes rares", , AP-HP, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Département de Génétique, 75013, Paris, France, Paris, Finlande
6. UF de génétique clinique, AP-HP, Hôpital Trousseau, Paris, France, PARIS, France
7. CMR anomalies du développement et syndromes polymalformatifs, APHP, Hopital Trousseau, PARIS, France
8. Centre de Référence , Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Département de Génétique, 75013, Paris, France., PARIS, France
9. Centre de Référence , AP-HP, Hôpital Trousseau, Paris, France, PARIS, France

Mots clefs : Déficience intellectuelle, adulte, exome

Résumé :

La déficience intellectuelle (DI) est une pathologie fréquente (environ 2% de la population générale). L'expression et les étiologies sont extrêmement variables et d'une très grande hétérogénéité. Dans le cadre du centre de référence « déficiences intellectuelles de causes rares », une consultation multidisciplinaire (généticien, neurologue et assistante sociale) dédiée aux adultes atteints de déficience intellectuelle a été mise en place depuis novembre 2005, dont les objectifs sont multiples: le diagnostic étiologique, le conseil génétique, la prise en charge, le suivi, la caractérisation phénotypique de patients et le profil évolutif de ces affections.
La prise en charge, sans diagnostic étiologique établi, est plus incertaine, pour ces patients en l'absence de données sur l'évolution et pour les apparentés faute de conseil génétique fiable.
L'arrivée des techniques de séquençage à haut débit a permis d'augmenter le rendement diagnostique de façon très importante dans la déficience intellectuelle avec une répercussion directe pour le conseil génétique. Nous avons sélectionné les patients adultes, âgés de plus de 15 ans 3 mois, présentant une déficience intellectuelle, sans diagnostic étiologique. Ils sont adressés de différents services : de pédiatrie pour 40%, de neurologie pour 20%, de psychiatrie pour 10%, et d'autres services (Endocrinologie, Médecine Physique, gynécologie…), ou par leur médecin traitant pour 30 %.
Ces patients ont bénéficié d'une étude en séquençage à haut débit en trio soit par Trusight one (TS1) de 2014 à 2016 soit par séquençage d'Exome à partir de 2015.
Au total, 123 patients ont été séquencés, 51 en trusight one (Illumina) et 72 en exome. Un diagnostic étiologique a été fait dans 37% des cas, (21,6% en TS1 et 47,2% en exome). 36 /45 (80%) sont des mutations de novo (7/11 en TS1 et 29/34 en exome), 7/45 (16%) sont des formes récessives (2/11 en TS1 et 5/34 en exome) et 2/45 (4%) sont des anomalies liées au chromosome X (2/11 en TS1 et aucune en exome) transmise par des mères.
A total, 11/123 (9%) de variants de significations inconnues ont été identifiés ou expliquant une partie seulement des symptômes versus (4/51 en TS1 et 7/72 en exome). Pour 6 patients sur 72 (8%), des gènes candidats ont pu être identifiés et sont en cours de validation. Dans les étiologies retrouvées, peu de gènes sont récurrents.

Ces résultats montrent l'importance du diagnostic génétique dans la déficience intellectuelle même chez un patient adulte avec des répercussions directes pour le conseil génétique des apparentés, un soulagement des parents après des années d'errance diagnostique, une description de l'évolution naturelle de ces maladies à l'âge adulte, une information sur le profil évolutif.

P078 : Utilisation d'un panel NGS de 74 gènes pour le diagnostic de paraplégies spastiques héréditaires : comparaison des résultats de recherche et de diagnostic

Auteurs :

Mélanie Papin (1), Guillaume Banneau (2), Mathilde Mairey (1), Liena Elsayed (1), Ashraf Mohamed Osman (1), Kol Bophara (2), Laurène Tissier (2), Sara Morais (3), Yannick Marie (4), Laure Raymond (1, 5), Livia Parodi (1), Eric Le guern (2, 6), Alexandra Durr (1, 7), Giovanni Stevanin (1, 5)

1. Equipe : Bases moléculaires, physiopathologie et traitement des maladies neurodégénératives, Institut du Cerveau et de la Moelle épinière (Sorbonne Universités, UPMC Université Paris 06 UMR S1127, INSERM U1127, CNRS UMR 7225, NEB), Paris, France
2. Fédération de Génétique, CHU Pitié-Salpêtrière, Paris, France
3. UnIGENe, IBMC, Porto, Portugal
4. Plateforme Génotypage et Séquençage, Institut du Cerveau et de la Moelle épinière (Sorbonne Universités, UPMC Université Paris 06 UMR S1127, INSERM U1127, CNRS UMR 7225, NEB), Paris, France
5. Equipe de neurogénétique (CHU Pitié-Salpêtrière), Ecole Pratique des Hautes Etudes, héSam Université, CHU Pitié-Salpêtrière, Paris, France
6. Equipe « Génétique et physiopathologie de l'épilepsie », Institut du Cerveau et de la Moelle épinière (Sorbonne Universités, UPMC Université Paris 06 UMR S1127, INSERM U1127, CNRS UMR 7225, NEB), Paris, France
7. Equipe de neurogénétique, CHU Pitié-Salpêtrière, Paris, France

Mots clefs : Paraplégies Spastiques Héréditaires, Capture ciblée, Séquençage de Nouvelle Génération

Résumé :

Les paraplégies spastiques (PS) héréditaires constituent un groupe de pathologies neurodégénératives principalement caractérisées par une dégénérescence du faisceau pyramidal. Cliniquement, la maladie se manifeste par des formes pures avec une spasticité progressive des membres inférieurs et des formes complexes y associant des troubles neurologiques et extra-neurologiques. La forte hétérogénéité phénotypique et génétique (plus de 70 gènes déjà décrits) de cette pathologie rend les tests moléculaires par séquençage Sanger longs et fastidieux.
L'avènement des technologies de nouvelle génération de séquençage (NGS) permet d'envisager de nouvelles stratégies d'analyse parmi lesquels le criblage à grande échelle de zones spécifiques du génome. Nous avons ainsi développé un kit à façon basé sur la technologie NimbleGen (Roche) afin de réaliser le séquençage haut-débit systématique des régions codantes de 74 gènes ayant été décrits dans la littérature comme responsables de paraplégies spastiques héréditaires. Les captures ont été préparées avec le kit SeqCap Ez Library (Roche) et séquencées sur un MiSeq (Illumina). L'alignement et la détection des variants ont été respectivement effectués par bwa et GATK etla recherche de réarrangements a été faite par analyse de couverture chez les cas sans variants évidents pour la série de recherche. Un pipeline dédié de la société GenoDiag a été utilisé pour la série de diagnostic.
Une série de 412 patients issus de la cohorte SPATAX et de collaborations a été explorée à l'aide de ce kit (série dite de recherche). Une série de réplication de 400 cas soumis pour un diagnostic moléculaire à l'UF de Neurogénétique a également été analysée avec la même technique (série dite de diagnostic). Après filtrage et priorisation, les variants ont été vérifiés par séquençage Sanger et lorsque cela était possible, les études de ségrégation ont été réalisées dans les familles.
Pour la série de recherche, le gène responsable du phénotype a pu être identifié dans 35,2% des cas. 44,4% ne présentent aucun variant d'intérêt et 20,4% présentent un ou plusieurs variants de signification inconnue. Dans ce dernier cas, les connaissances actuelles sur les gènes impliqués n'ont pas permis de conclure quant à leur implication dans la maladie. Des résultats comparables ont été obtenus dans la cohorte diagnostique, avec notamment l'identification du gène responsable de la pathologie dans 28% de cas.
A ce jour, plus de 60% des patients n'ont pas d'explication moléculaire à leur maladie. Une hypothèse serait la présence de mutations dans des gènes actuellement non rapportés comme liés aux paraplégies spastiques. L'extension de ce kit donne lieu à l'utilisation d'un nouveau test génétique basé sur le séquençage haut-débit des régions codantes de 3500 gènes dont 2500 sont responsables de syndromes génétiques reconnus avec une atteinte cérébrale et 1000 sont des gènes candidats sur la base de leur fonction ou de leur expression cérébrale préférentielle.

P079 : Criblage des gènes npc1 et npc2 parmi 200 patients atteints de la maladie de Parkinson à un âge précoce

Auteurs :

hélène bertrand (1), Sabine Prud'hon (2), Suzanne LESAGE (1), Christelle Tesson (3), Fabrice DANJOU (4), Yann Nadjar (5), Farid Lamari (6), Jean christophe Corvol (1)

1. INSERM U1127, CNRS UMR 7225, UPMC Université Paris 06 UMR S1127, Sorbonne Université Institut du Cerveau et de la Moelle épinière, ICM F-75013, paris, France
2. INSERM U1127, CNRS UMR 7225, UPMC Université Paris 06 UMR S1127, Sorbonne Université Institut du Cerveau et de la Moelle épinière, , ICM F-75013, paris, France
3. INSERM U1127, CNRS UMR 7225, UPMC Université Paris 06 UMR S1127, Sorbonne Université Institut du Cerveau et de la Moelle épinière, , ICM F-75013, paris, France
4. - INSERM U1127, CNRS UMR 7225, UPMC Université Paris 06 UMR S1127, Sorbonne Université Institut du Cerveau et de la Moelle épinière, ICM F-75013, paris, France
5. Département des Maladies du Système Nerveux Central, Uf Neurométabolique, Hôpital Pitié Salpêtrière , paris, France
6. Biochimie Métabolique, Uf Neurométabolique , Hôpital Pitié Salpêtrière, paris, France

Mots clefs : parkinson, Niemann-Pick, gène, séquençage

Résumé :

Criblage des gènes npc1 et npc2 parmi 200 patients atteints de la maladie de Parkinson à un âge précoce
Screening of NPC1 and NPC2 genes in 200 patients with early onset Parkinson's disease

Authors: Hélène Bertrand[1], Sabine Prud'hon[1], Fabrice Danjou[1], Christelle Tesson[1], Yann Nadjar[2], Foudil Lamari[3], Suzanne Lesage[1], JC Corvol[1]
1- *INSERM U1127, CNRS* UMR 7225, UPMC Université Paris 06 UMR S1127, Sorbonne Université Institut du Cerveau et de la Moelle épinière, ICM F-75013, Paris, France.
2- Département des Maladies du Système Nerveux Central, Uf Neurométabolique - Hôpital Pitié Salpêtrière - Paris – France
3- Biochimie Métabolique, Uf Neurométabolique - Hôpital Pitié Salpêtrière - Paris - France

Introduction Neurological symptoms of Niemann-Pick's disease type C in the adult onset form can mimic several neurodegenerative disorders. There is growing evidence of an overlap between Parkinson's disease (PD) and lysosomal storage disorders, such as Gaucher's and Niemann-Pick's diseases.
Aim To evaluate the frequency of mutations in two Niemann-Pick's disease-associated genes, *NPC1* and *NPC2* in a French population of patients with early onset PD.
Methods and patients: Using a series of 200 PD patients with an age at onset ≤ 50 years (100 males and 100 females) and excluded for the common *LRRK2* G2019S mutation, we investigated two candidate genes, *NPC1* and *NPC2*, in an effort to identify possible causal variants, using multiplexed PCR based on Fluidigm Access-Array technology followed by barcoding and next generation resequencing on an Illumina MiSeq platform. Sanger DNA sequencing was further conducted for single-mutation confirmation.
Results Nine PD patients carried heterozygous variants in *NPC1* and one patient was homozygote for a novel *NPC1* variant predicted to be benign. Of them, four patients carried the same recurrent variant, N222S known to be causative in homozygous state in Niemann-Pick's disease, accounting for a frequency of 2.5% in our PD population tested. Two other patients carried the *NPC1* P237S variant known to be benign in Niemann-Pick's disease. The remaining *NPC1* variants were not known to be associated yet to Niemann-Pick's disease. A splice site variant of unknown significance and a missense variant, both in heterozygous state were identified in *NPC2*, each in one PD patient. In addition, one of the two patients harbored an additional N222S variant in *NPC1*, suggesting a digenism occurrence. Patients with *NPC1* and *NPC2* variants exhibited classical PD.
Conclusion Heterozygous mutations in the two Niemann-Pick's disease-associated genes *NPC1* and rarely *NPC2* could be risk factors for PD. Additional studies are warranted to confirm the role of *NPC* genes in PD.

P080 : Rôle de miR-146a dans la différenciation et la détermination de l'identité des cellules souches neurales : pertinence pour les désordres neurodéveloppementaux

Auteurs :

Lam Son Nguyen (1), Julien Fregeac (1), Christine Bole-Feysot (2), Patrick Nitschke (2), Anand Iyer (3), Jasper Anink (3), Eleonora Aronica (3), Olivier Alibeu (2), Nicolas Cagnard (2), Laurence Colleaux (1)

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. INSERM UMR 1163, Imagine Institute, Necker-Enfants Malades Hospital, Paris, France
3. Department of (Neuro) Pathology, Academic Medical Center, University of Amsterdam, Amsterdam, Pays-Bas

Mots clefs : Autisme, microARN, neurodéveloppementaux, cellules souches neurales

Résumé :

Les troubles du spectre autistique sont un groupe de désordres neurodéveloppementaux causés par l'interaction entre des facteurs génétique, épigénétique et environnementaux. Parmi les facteurs épigénétiques, les microARNs (miARNs) ont un rôle clé dans le développement neuronal et la formation des synapses. Plusieurs groupes dont le nôtre ont récemment identifié la surexpression de *miR-146a* comme une anomalie moléculaire commune à divers types cellulaires provenant de patients autistes. Nous avons également montré par RT-qPCR que *miR-146a* était surexprimé spécifiquement dans le lobe temporal de jeunes sujets autistes (de 4 à 10 ans) mais pas chez les adolescents ou les adultes. Par ailleurs, l'augmentation de l'expression de *miR-146a* a également été observée dans les cellules de patients atteints de déficiences intellectuelles et dans le sérum de patients épileptiques, suggérant un mécanisme physiopathologique commun médié par *miR-146a* pour ces différentes maladies du neurodéveloppement.
Afin de comprendre son rôle dans le développement précoce du cerveau, nous avons combiné des approches *in vitro* et *in vivo*. Dans des cellules souches neurales humaines (H9), la surexpression de *miR-146a* accroit la croissance et le nombre de branchements des neurites et favorise la différenciation en cellules de type neuronal exprimant TUBIII. Des études d'expression montrent que dix pour cents du transcriptome sont dérégulés (1039 gènes, $P < 0,05$, ratio $> 1,5$), et que les gènes différentiellement exprimés s'organisent en deux modules critiques pour le contrôle du cycle cellulaire et la différenciation neuronale. De plus, quarante pour cents (13/32) des marqueurs d'identité neuronale sont dérégulés, suggérant que *miR-146a* joue également un rôle dans la détermination de l'identité neurale. Dans la souris constitutivement inactivée pour *miR-146a*, les études transcriptomiques à E14.5 (néocortex), P30 et P60 (cortex sensorimoteur, hippocampe et amygdale) montrent un effet région- et stade-spécifique de l'absence de *miR-146a*. Les neurones pyramidaux et les interneurones sont les types cellulaires les plus sévèrement affectés et les voies de signalisation dérégulées sont impliquées dans les différentes étapes de la différentiation neuronale et de la maturation synaptique. Ces résultats, qui sont à rapprocher des anomalies structurelles observées au niveau des couches corticales des cerveaux de patients autistes, fournissent de nouvelles pistes pour mieux comprendre le rôle de *miR-146a* dans le développement cérébral et l'étiologie des maladies neurodéveloppementales.

P081 : Phénotype clinico-radiologique d'une série d'enfants atteints de mutations CACNA1A - Résultats du PHRC de Montpellier sur l'étude phénotypique des syndromes épisodiques de l'enfant.

Auteurs :

Agathe ROUBERTIE (1, 2), Florence RIANT (3), Elisabeth TOURNIER-LASSERVE (4), Benjamin KRAMS (1), Véronique HUMBERTCLAUDE (5), Erika NOGUE (6), Nicolas NAGOT (6), Bernard ECHENNE (1), Diane DOUMMAR (7), Fanny DUBOIS (8), Sylvia NAPURI (9), Laurence LION-FRANCOIS (10), Stéphane CHABRIER (11), Chrystelle BONNEMAINS (12), Nicolas LEBOUCQ (13), Stéphanie SANCHEZ (1), Elodie LANG (1), François RIVIER (1), Pierre MEYER (1), Daniel ANNEQUIN (14)

1. Neuropédiatrie, Hôpital Gui de Chauliac, Montpellier, France
2. INSERM U1051, Institut des Neurosciences, Montpellier, France
3. Génétique Moléculiare Neurovasculaire, Hôpital Lariboisière, Paris, France
4. Genetique Moléculiare Neurovasculaire, Hôpital Lariboisière, Paris, France
5. Médecine Psychologique Enfants et Adolescents, Hôpital Saint Eloi, montepellier, France
6. Centre d'Investigation Clinique, CHU de Montpellier, Montpellier, France
7. Neuropédiatrie, Hôpital Trousseau, Paris, France
8. Pédiatrie, Hopital Nord, Grenoble, France
9. Pédiatrie, Hôpital Sud, Rennes, France
10. Neuropédiatrie, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
11. Service de Médecine Physique et Réadaptation pédiatrique, Hôpital Bellevue, Saint-Etienne, France
12. Service de Médecine Infantile et Génétique Clinique, Hôpital d'Enfants, Nancy, France
13. Neuroradiologie, CHU de Montpellier, Montpellier, France
14. Neuropédiatrie, Hôpital Trousseau, Parie, France

Mots clefs : CACNA1A, syndromes episodiques, evaluation cognitive, developpement psychomoteur

Résumé :

Objectif: les mutations du gène *CACNA1A* sont associées à des épisodes de migraine hémiplégique et d'ataxie épisodique, mais aussi plus rarement à d'autres types de manifestations cliniques telles que la déviation tonique du regard vers le haut, le torticolis paroxystique bénin, les vertiges paroxystiques bénins, des manifestations épileptiques ou une ataxie permanente. Cette étude décrit le phénotype clinico-radiologique d'une série d'enfants porteurs d'une mutation *CACNA1A*.

Méthode: Des enfants de 3 à 18 ans ayant une mutation du gène *CACNA1A* ont été recrutés pour cette étude. L'examen clinique à l'inclusion a été effectué et les données concernant le développement psychomoteur, les troubles d'apprentissage, la gestion de l'éducation et l'imagerie cérébrale ont été recueillies. L'évaluation cognitive a été effectuée à l'aide d'échelles standardisées en fonction de l'âge.

Résultats: 18 patients de 14 familles (âge moyen 12,25 ans) ont été inclus, 16 ont bénéficié d'une évaluation cognitive standardisée. Les événements épisodiques suivants ont été rapportés chez ces patients : déviation tonique du regard vers le haut (tonic upgaze) (nombre de patients = 4), torticolis paroxystique bénin (n = 3), vertige paroxystique bénin (n = 1), migraine hémiplégique (n = 5), ataxie épisodique (n = 11), migraine non hémiplégique (n = 5), crises épileptiques (n = 2), myoclonus (n = 1). Onze patients ont présenté une combinaison de différents événements épisodiques. La moitié des patients avaient un examen neurologique anormal à l'inclusion. Une atrophie cérébelleuse sur l'IRM cérébrale a été observée chez 5/18 patients. Un retard de développement psychomoteur était présent chez la moitié des patients, des troubles d'apprentissage ont été rapportés chez 15/18 patients (83%); 9/18 (50%) des patients ont été admis dans un établissement spécialisé pour enfants handicapés. Une déficience mentale a été identifiée dans 7 cas (44%), alors que seulement 2 patients avaient un quotient intellectuel normal. Enfin, 14/18 patients (78%) ont été considérés comme ayant un fonctionnement cognitif anormal. Le dysfonctionnement cognitif a été corrélé avec l'apparition d'une ataxie épisodique; l'atrophie cérébelleuse sur l'IRM a été corrélée avec un retard moteur, une fonction cognitive anormale et avec la présence d'une mutation stop

Conclusion: nos résultats montrent que les troubles cognitifs sont communément associés aux mutations *CACNA1A*. Le large spectre phénotypique associé à des mutations de *CACNA1A* est souligné, incluant des manifestations paroxystiques non épileptiques, des manifestations paroxystiques épileptiques, des symptômes neurologiques permanents et des difficultés cognitives. Les mutations de *CACNA1A* peuvent avoir un retentissement fonctionnel moteur et cognitif de début précoce, parfois sévère, et nous proposons que le phénotype associé aux mutations de *CACNA1A* soit considéré comme un trouble neurodéveloppemental.

P082 : BRAT1, un gène de dystrophie rétinienne syndromique

Auteurs :

Thomas Courtin (1), Laurence Derieux (2), Dominique Bremond-Gignac (3), Jean-Michel Rozet (4), Sylvie Gerber (4), Marlène Rio (1)

1. Service de Génétique Médicale, Hôpital Necker, APHP, Paris, France
2. Service d'ophtalmologie, Hôpital St Martin-Caen, Caen, France
3. Service d'Ophtalmologie, Hôpital Necker, APHP, Paris, France
4. Laboratoire de Génétique Ophtalmologique, INSERM UMR 1163, Institut Imagine, Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, Paris, France

Mots clefs : BRAT1, dystrophie rétinienne, encéphalopathie épileptique, atrophie cérébelleuse, déficience intellectuelle, spectre clinique

Résumé :

L'intégrité du génome et par conséquent les mécanismes de réparation de l'ADN sont essentiels à l'homéostasie neuronale. *BRAT1* est l'un des acteurs de la réparation de l'ADN en lien avec le développement neurologique. Il code une protéine interagissant directement avec le gène suppresseur de tumeur *BRCA1* ainsi qu'avec *ATM1*, une kinase impliquée dans la réponse cellulaire aux dommages de l'ADN. Les mutations de *BRAT1* sont responsables d'un spectre large d'atteintes neurologiques allant d'une pathologie létale associant rigidité et épilepsie néonatale à un phénotype beaucoup plus modéré avec déficience intellectuelle et atrophie cérébelleuse.
Ici nous rapportons l'existence d'une neurodégénérescence des cellules photoréceptrices de la rétine associée à une atteinte neurologique chez deux patients non apparentés porteurs de mutations bi-alléliques de *BRAT1*.
L'atteinte neurologique, superposable chez les deux individus, se caractérise par une hypotonie néonatale, un retard des acquisitions et une atrophie cérébelleuse progressive.
Sur le plan ophtalmologique, les deux individus sont atteints de dystrophie rétinienne précoce. L'analyse par exome en trio a identifié des variants supposément délétères (SIFT, PolyPhen 2 et Mutation Taster) du gène *BRAT1* à l'état hétérozygote composite pour l'un des patients (c.637_638insA, p.Val214Gly*189 / c.1564G>A, p.Glu522Lys) et homozygote (c.359G>A, p.Arg120His) pour le second.
Ces données associées à la publication récente d'un cas au phénotype neurologique et rétinien similaire en rapport avec des mutations du gène *BRAT1*, démontrent de façon formelle l'implication de ce gène dans l'intégrité des photorécepteurs. Ceci élargit le spectre des atteintes neuronales associées à ce gène, et suggère la nécessité d'un examen ophtalmologique, incluant un électrorétinogramme devant un tableau neurologique associant un retard du développement psychomoteur et une atrophie cérébelleuse. L'existence d'une rétinite pigmentaire chez un patient atteint d'une atrophie cérébelleuse doit faire évoquer l'implication du gène *BRAT1*.

P083 : AGO1 : un nouveau gène impliqué dans la déficience intellectuelle

Auteurs :

Amelie PITON (1), frederic TRAN MAU THEM (2), Yves ALEMBIK (3), Fadi HAMDAN (4), Margot COUSIN (5), Hubert JOURNEL (6), Sandrine PASSEMARD (7), Caroline NAVA (8), Boris KEREN (8), Cyril MIGNOT (9), Jean Louis MANDEL (10), Jamel CHELLY (1), Bénédicte GERARD (11)

1. Laboratoire de Diagnostic Génétique, CHRU strasbourg, Strasbourg, France
2. Laboratoire de génétique , CHU de Dijon, DIJON, France
3. Service de génétique médicale, CHU de Strasbourg, Strasbourg, France
4. Département de Génétique, Sainte Justine, Montreal, Canada
5. Département de Génétique, Mayo Clinic, Rochester, MN, Etats-Unis
6. Service de génétique médicale, CHR de Vannes, VANNES, France
7. Département de Génétique, Hôpital Robert Debré-APHP, Paris, France
8. Laboratoire de génétique , GH Pitié-Salpêtrière, APHP, Paris, France
9. Département de Génétique, Centre de Référence Déficiences Intellectuelles de Causes Rares, GH Pitié-Salpêtrière, APHP, Paris, France
10. Laboratoire de Diagnostic Génétique, CHRU strasbourg, , France
11. Laboratoire de Diagnostic Génétique, CHRU strasbourg, strasbourg, France

Mots clefs : Deficience intellectuelle-diagnostic-sequençage haut débit

Résumé :

Les données cumulées issues de l'analyse de nos panels ciblés de gènes de déficience intellectuelle (DI)(275, 450 puis 520 gènes) sur les 1028 diagnostics rendus à Strasbourg ont permis de confirmer l'implication de nombreux gènes dans la DI (BPRF1, MYT1L, POGZ, AUTS2 …). Nous avons récemment identifié dans notre cohorte deux familles présentant des variations faux sens *de novo* dans le gène *AGO1*, prédit très intolérant à ces variations (ExAC, Z score de 6,53). Un appel à collaboration internationale via GeneMatcher a permis de réunir au total 8 familles de patients avec variations faux sens *de novo* dans ce gène, au total 9 cas atteints car une variation est présente chez deux jumelles monozygotes. Les variations (L190P, E195L, G199S, D216V, R253H, V254I, V254I, H751L) touchent des acides aminés très conservés et sont localisées dans des domaines fonctionnels putatifs différents (NH2 terminal, PAZ et PIWI). La clinique de ces patients montre la présence d'une DI légère ou sévère (6/6), une épilepsie (3/5), un retard de langage (6/6), des troubles du spectre autistique (5/6), des troubles du comportement (anxiété, automutilation) ou psychiatriques (troubles psychotiques), des troubles du sommeil (4/5), un retard du développement moteur (4/5). Un mamelon supplémentaire, une anomalie rénale, une camptodactylie ou bradymétacarpie ont été rapportées mais sans récurrence. Il n'existe pas de dysmorphie faciale évidente.
L'identification de variations *de novo* dans différents domaines de la protéine AGO1 constitue une opportunité unique pour caractériser la fonction de la protéine AGO1 dans les cellules humaines, et préciser sa fonction dans les cellules du SNC. Ce gène fait partie de la famille des protéines argonautes, impliquées dans le métabolisme des siRNA et microARN et dans l'inhibition de la transcription de certains gènes. Si la fonction du gène *AGO2* est bien caractérisée, le gène *AGO1* est lui bien moins connu chez l'Homme. La protéine AGO1, d'expression ubiquitaire, ne semble pas avoir d'activité de clivage de l'ARN ciblé par le microARN contrairement à AGO2. La protéine AGO1 semble être impliquée dans la régulation globale de la transcription, soit par interaction directe avec l'ARN polymérase II (phase d'initiation de la transcription), soit au niveau de l'épissage de certains ARNm (présence d'enhancer intragénique d'épissage). La mise au point d'un test fonctionnel, basé sur l'analyse des ARNm est en cours sur les fibroblastes des patients. Cette analyse cherchera à montrer 1) l'impact de la protéine AGO1 sur l'expression globale des ARNm (RNA-Seq) 2) l'impact d'AGO1 sur des enhancers intragéniques d'épissage (analyse de l'épissage des gènes cibles suivants : *CCDC125*, *PIP5KIA*, *CAP2*) 3) l'analyse du profil d'expression des microRNA. Une perturbation du profil a en effet été rapportée en cas d'inactivation du gène *AGO1*.

P084 : Mutation TUBA1A mimant un phénotype d'hydrocéphalie par sténose de l'aqueduc de Sylvius

Auteurs :

Adeline BONNARD (1), Homa ADLE-BIASSETTE (2), Suonavy KHUNG (1), Yline CAPRI (3), Rémi PINEAU (1), Atieh RICHET (4), Nadia BAHI-BUISSON (5), Fabien GUIMIOT (1, 6)

1. Département de Génétique, UF de Foetopathologie, APHP hôpital Robert-Debré, Paris, France
2. Service d'anatomie et cytologie pathologiques, APHP hôpital Lariboisière, Paris, France
3. Département de Génétique, UF de Génétique Clinique, APHP hôpital Robert-Debré, Paris, France
4. Service de Gynécologie obstétrique, Centre hospitalier de Gonesse, Gonesse, France
5. INSERM UMR 1163, Embryologie et Génétique des Malformations Congénitales, Université Paris Descartes-Sorbonne Paris Cité, Institut Imagine, Paris, France
6. INSERM UMR1141, Université Paris Diderot, APHP hôpital Robert-Debré, Paris, France

Mots clefs : sténose de l'aqueduc de Sylvius, présentation fœtale, TUBA1A, tubulinopathie

Résumé :

Les « tubulinopathies » appartiennent à un groupe de pathologies caractérisées par des anomalies de gyration, liées à des anomalies de migration neuronale par dysfonctionnement du cytosquelette des microtubules. Elles constituent un large spectre de sévérité variable, allant d'une gyration simplifiée à une microlissencéphalie, associées à d'autres anomalies cérébrales. Des retards de développement sévères y sont associés. A ce jour, 7 gènes ont été identifiés, dont le gène le plus souvent muté est *TUBA1A*, de transmission autosomique dominante. Des études neurofœtopathologiques effectuées à partir d'interruptions médicales de grossesse, impliquant ce gène, ont montré que les anomalies de développement cérébral concernaient habituellement la gyration cérébrale, le corps calleux, les hypocampes, le cervelet et le tronc cérébral.
Nous rapportons le diagnostic d'un fœtus de sexe féminin dont la découverte à l'échographie morphologique de 24 semaines d'aménorrhée (SA) d'une dilatation triventriculaire majeure avec macrocrânie, d'un parenchyme cérébral laminé, d'une rupture septale, d'une agénésie du corps calleux et d'un immobilisme fœtal a conduit à une interruption médicale de grossesse à 26 SA.
L'étude neurofœtopathologique a confirmé les éléments retrouvés en imagerie, et a également mis en évidence une microlissencéphalie, une hypoplasie de la capsule interne, du tronc cérébral et des olives bulbaires, un cervelet dysmorphique ainsi qu'une sténose de l'aqueduc de Sylvius. Le séquençage du panel NGS a révélé une mutation encore non décrite à l'état hétérozygote p.Ile93Thr dans le gène *TUBA1A*.
La sténose de l'aqueduc de Sylvius est une présentation inhabituelle des tubulinopathies, probablement à l'origine de l'hydrocéphalie majeure présentée par le fœtus. La dilatation ventriculaire est un des signes classiquement retrouvés dans ce type de pathologie, mais elle est liée à l'anomalie de développement du cortex cérébral.
La sténose de l'aqueduc est plus souvent associée à des mutations dans les gènes tels *L1CAM* de transmission liée à l'X, *MPDZ* et *CCDC88C* de transmission autosomique récessive. D'autres lésions cérébrales peuvent également y être associées, telles qu'une gyration effacée, une agénésie ou une hypoplasie du corps calleux et du cervelet.
Cette nouvelle association, tubulinopathie et sténose de l'aqueduc de Sylvius, n'a encore jamais été rapportée à notre connaissance et constitue une extension du phénotype lié à des mutations de *TUBA1A*.

P085 : DAB1 et troubles du spectre autistique, quelle relation? : A propos d'un cas de microdélétion 1p31p32.

Auteurs :

Hamza Hadj Abdallah (1), Ali Saad (1), Afef Jelloul (1), Amel Tej (2), Sarra Bouslah (3), Naoufel Gaddour (3), Lamia Boughamoura (2), Soumaya Mougou-Zrelli (1)

1. Service de cytogénétique et de Biologie de la reproduction , CHU Farhat Hachad Sousse, Sousse, Tunisie
2. Service de Pédiatrie, CHU Farhat Hachad Sousse, Sousse, Tunisie
3. Service de Pédopsychiatrie , CHU Fattouma Bourguiba, Monastir, Tunisie

Mots clefs : Trouble du spectre autistique, DAB1, NFIA, Voie de signalisation Reelin, troubles neurodéveloppementaux, syndrome de microdélétion 1p32p31,

Résumé :

Introduction :
Le trouble du spectre autistique est un groupe génétiquement hétérogène. Plusieurs gènes ont été proposés comme candidats dont *DAB1. DAB1* est un gène codant pour une protéine adaptatrice de la voie de signalisation Reelin. Cette voie est nécessaire pour la migration neuronale corticale au cours du développement embryonnaire. Des études d'associations l'ont proposé comme facteur de susceptibilité génique à l'autisme. Cette hypothèse a été fortement appuyée par les modèles murins.Nous discutons ici le rôle pathogénique de l'haploinsuffisance de *DAB1* à travers un cas de microdélétion 1p31p32.
Patient et méthodes
Nous rapportons ici le cas d'un nourrisson de 23 mois adressé au service de Cytogénétique et de Biologie de la Reproduction du CHU Farhat Hachad Sousse pour exploration génétique de troubles neurodéveloppementaux associés à une agénésie du corps calleux(ACC) et une dysmorphie craniofaciale. L'évaluation du patient était faite par un neuropédiatre, un généticien et un pédopsychiatre. Un caryotype conventionnel suivi d'une hybridation génomique comparative (CGH-array) de 44kb étaient réalisés.
Résultat :
Le caryotype conventionnel n'avait pas montré d'anomalies. La CGH-array a révélé une microdélétion en 1p31.3p32.3(hg19:54,198,562-61,819,078) de 7,9Mbp . Une analyse par FISH utilisant les BACs RP11-714D6 et RP11-1114C4: incluant le gène *NFIA* était faite pour l'enfant et ses parents confirmant l'haploinsuffisance du *NFIA* et son caractère *de-novo.*
Discussion :
Le syndrome de microdélétion 1p31p32 est un syndrome de délétion de gènes contigus. Le gène *NFIA* était désigné comme le gène principal responsable des malformations rénales et cérébrales. D'autres gènes contribueront aux aspects phénotypiques dont *DAB1*. Il aurait un rôle essentiel dans la migration et la plasticité neuronale par le biais de la voie de signalisation Reelin, une hypothèse appuyée par les modèles murins haploinsuffisants à ce gène et montrant des troubles de l'apprentissage associatif. Les polymorphismes de *DAB1* étaient associés aux TSA dans une série chinoise. Il serait donc un candidat potentiel de susceptibilité aux TSA et contribuerait à l'ACC. Mais aucune mutation ponctuelle n'était rapportée pour soutenir cette hypothèse.Dans le cas présent, l'évaluation spécialisée a conclu plutôt à un déficit intellectuel. Donc le gène pourrait être responsable d'un large spectre de troubles neurodéveloppementaux.Et le déficit intellectuel pourrait etre un épiphénomène de l'ACC. D'où l'intérêt des études comparatives et fonctionnelles portant sur ce gène, ainsi que l'évaluation phénotypique exhaustive des patients pour mieux élucider les liens entre *DAB1* et autisme.

P086 : Recherche de gènes candidats dans le Syndrome d'Aicardi (SA)

Auteurs :

Céline Bonnet (1, 2), Aurélie Becker (1), Myriam Bronner (1), Minh Tuan Huynh (1), Asma Ali Khan (1), Gabriel Tone (1), Pierre Perny (1, 2), Marie-Dominique Devignes (3), Emmanuel Bresso (3), Frédéric Massin (4), Véronique Latger-Cannard (4), Rémi Houlgatte (2), Philippe Jonveaux (1, 2)

1. Laboratoire de génétique, CHRU de Nancy, Vandoeuvre Les Nancy, France
2. INSERM U954, Université de Lorraine, Vandoeuvre Les Nancy, France
3. LORIA UMR7503 , CNRS, INRIA, Nancy-Université, Nancy, France
4. Laboratoire d'hématologie, CHRU de Nancy, Vandoeuvre Les Nancy, France

Mots clefs : Aicardi, exome, transcriptome

Résumé :

Grâce à l'**association française AAL** et au **réseau francophone de généticiens et neuropédiatres**, nous avons constitué une cohorte de **30 patientes** atteinte d'un SA.

Nous avons réalisé une **étude de l'inactivation du chromosome X** chez ces 30 patientes. Nous avons remarqué que la prévalence d'un profil d'inactivation biaisé et extrêmement biaisé (33% et 7,5% de notre cohorte) est significativement plus élevée dans la cohorte de patientes que dans la population générale adulte (n= 415 avec respectivement 14,2 % et 1,7%) (Amos-Landgraf et al., 2006). Cette prévalence est en faveur d'une mutation sur une région du chr X soumise à inactivation. Elbe et al., 2009 avait obtenu des résultats similaires.

Après avoir recherché des **CNV par CGH-array ciblée sur le chr X** (Yilmaz et al., 2007) puis **par CGH-array pangénomique** (Agilent 244K) comme l'ont fait Wang et al., 2009 sans pouvoir identifier de CNV causal (nous avons identifié une délétion 1p36 chez une patiente, il s'agissait d'une phénocopie : Bursztejn et al. 2009), nous avons plus récemment confirmé ces résultats par CGH-array à **un million d'oligonucléotides sur le chr X** (Agilent custom array).

Nous avons réalisé un **séquençage haut débit de l'exome** de cinq trios (patiente - parents) et de huit patientes en simplex ; nous n'avons pas identifié de gène candidat pour le SA. Schrauwen et al., 2015 ont identifié récemment des mutations *de novo* dans deux gènes autosomiques (*TEAD1* et *OCEL1*), ce qui suggèrerait une hétérogénéité génétique ; toutefois ces résultats n'ont pas été reproduit sur une cohorte de 38 patientes (Wong et al., 2017) laissant penser qu'il s'agit de causes extrêmement rares ou de découvertes fortuites. Lund et al., 2016 ont réalisé récemment le séquençage de l'exome de 11 patientes sans pouvoir identifier de mutation causale. Nous allons compléter l'analyse d'exomes dans les autres familles dans l'hypothèse d'une hétérogénéité génétique.

Schrauwen et al., 2015 ont réalisé des études transcriptomiques chez 9 patientes sur de l'ARN total extrait de sang périphérique. Ils ont mis en évidence une expression altérée de gènes impliqués dans la plasticité synaptique, le développement neuronal et rétinien et le contrôle du cycle cellulaire. Nous avons réalisé des biopsies cutanées pour trois patientes à l'occasion d'interventions chirurgicales. Nous avons **mis en culture et conservé les fibroblates**. L'ARN total a été extrait et une **étude du transcriptome** a été réalisée en comparaison à trois témoins. Les résultats sont actuellement en cours d'analyse. Nous allons aussi établir des cultures clonales de ces fibroblastes afin de comparer le profil transcriptionnel des clones inactivant un des deux chr X avec un même fond génétique.

Enfin, nous avons constaté des temps de culture plus longs pour les cellules des patientes que des témoins. Nous avons réalisé des **études du cycle cellulaire par cytométrie en flux** sans pouvoir mettre en évidence d'anomalie du cycle cellulaire chez les patientes.

P087 : Identification par séquençage haut débit d'une nouvelle mutation du gène de la Péricentrine chez une patiente présentant un syndrome de Seckel

Auteurs :

Jaber Lyahyai (1), Saadia Amasdl (2), Abdelali Zrhidri (1), Laure Raymond (3), Siham Elalaoui (1), Said El Mouatassim (3), Grégory EGEA (3), Abdelaziz SEFIANI (4)

1. Centre de Génomique Humaine, Université Mohammed V, Rabat, Maroc
2. Département de Génétique Médicale, Institut National d'Hygiène , Rabat, Maroc
3. Département de Génétique Moléculaire, Laboratoire Biomnis, Lyon, France
4. Centre de Génomique Humaine, Université Mohammed V, rabat, Maroc

Mots clefs : PCNT, syndrome de Seckel, Séquençage haut débit

Résumé :

Le syndrome de Seckel est le plus fréquent des nanismes Ostéodysplasiques avec microcéphalie. Il est caractérisé par un nanisme harmonieux à début anténatal, une microcéphalie et une dysmorphie faciale dite en tête d'oiseau, associés ou non à des anomalies hématologiques et chromosomiques. Le diagnostic différentiel se pose essentiellement avec le nanisme Osteodysplastique avec Microcephalie de type II. Le syndrome de Seckel est transmis sur un mode autosomique récessif et est hétérogène sur le plan génétique. Durant les dernières années le séquençage haut débit a démontré une particulière efficacité devant les cas d'hétérogénéité génétique.
Nous rapportons le cas d'une fillette marocaine âgée de 3 ans chez qui nous avons évoqué le syndrome de Seckel devant l'association d'un retard de croissance harmonieux pré- et post-natale, une microcéphalie et la dysmorphie faciale avec un nez en bec sans front fuyant. L'examen clinique a été sans particularité. La radiographie squelettique n'a révélé aucune anomalie.
L'analyse moléculaire par séquençage haut débit a identifié une nouvelle délétion avec la création d'un codon stop prématuré dans le gène *PCNT*.
Nos résultats élargissent le spectre de mutation du gène *PCNT* et enrichissent la corrélation phénotype-génotype du syndrome de Seckel. Ce rapport confirme encore une fois l'utilité du diagnostic par séquençage haut débit dans les maladies hétérogènes.

P088 : Prurit isolé de transmission autosomique dominante du à une neuropathie à petites fibres?

Auteurs :

Alban Ziegler (1), Philippe Codron (2), Julien Cassereau (2), Franck Letournel (3), Christophe Verny (2), Ludovic Martin (4), Dominique Bonneau (1)

1. Service de génétique clinique, CHU d'Angers, Angers, France
2. Service de neurologie, CHU d'Angers, Angers, France
3. Service d'Anapathologie, CHU d'Angers, Angers, France
4. Service de dermatologie, CHU d'Angers, Angers, France

Mots clefs : Prurit isolé, Neuropathies à petites fibres, tranmission autosomique dominante

Résumé :

Introduction
Le prurit se définit comme une sensation désagréable conduisant au besoin de se gratter. Les causes les plus fréquentes sont les lésions dermatologiques ou la cholestase. Plus rarement, le prurit peut être un symptôme des neuropathies à petites fibres. Les mutations du gène *SCN9A* sont la seule cause connue de neuropathie à petites fibres. Cependant, les mutations de ce gène sont toujours associées à des douleurs neuropathiques au premier plan de la symptomatologie. Des signes dysautonomiques sont aussi fréquemment retrouvés chez ces personnes.
Nous rapportons une large famille présentant une neuropathie à petites fibres entrainant un prurit sans douleur ni signe dysautonomique.
Patients
Le prurit est documenté chez 11 membres (6 hommes et 5 femmes) sur 5 générations avec transmission père-fils dans cette famille d'origine caucasienne.
L'examen dermatologique des sujets atteints a éliminé une origine dermatologique au prurit. Les biopsies cutanées réalisées chez trois sujets atteints montrent une diminution significative de la densité des petites fibres confirmant la composante neurogène du prurit. Toutefois, les patients ne présentent pas de signe dysautonomique ni de douleur.
Méthodes
Le séquençage Sanger du gène *SCN9A* chez le proposant n'a pas mis en évidence de mutation. La SNP-array et le séquençage de l'exome chez les 3 personnes ayant eu une biopsie cutanée n'ont pas permis d'identifier de gène candidat.
Discussion
Il s'agit de la première description d'un cas familial de neuropathie des petites fibres responsable d'un prurit isolé. Les investigations moléculaires sont pour l'instant négatives. L'identification d'autres familles avec une atteinte similaire permettrait de poursuivre la recherche de gènes candidats.

P089 : Evolution de la structuration de l'offre de soins en génétique moléculaire dans le cadre de la déficience intellectuelle

Auteurs :

Thomas Smol (1, 2), Amélie Piton (3), Stéphane Bezieau (4), Ange-Line Bruel (5), Nicolas Chatron (6), Christèle Dubourg (7), Benedicte Gerard (3), Boris Keren (8), Audrey Labalme (6), Gaetan Lesca (6), Caroline Nava (8), Christophe Philippe (5), Christel Thauvin (5), Frédéric Tran Mau-Them (5), Anne-Sophie Lebre (9), Patricia Fergelot (10)

1. Institut de génétique médicale, CHRU Lille, Lille, France
2. EA7364 RADEME, Université de Lille, Lille, France
3. Laboratoire de diagnostic génétique, CHRU Strasbourg, Strasbourg, France
4. Service de génétique médicale, CHU Nantes, Nantes, France
5. UF Innovation en diagnostic des maladies rares, FHU TRANSLAD, CHU Dijon, Dijon, France
6. Service de génétique, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
7. Laboratoire de génétique moléculaire, CHU Rennes, Rennes, France
8. Département de génétique, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Paris, France
9. Service de Génétique et Biologie de la Reproduction, CHU Reims, Reims, France
10. Service de génétique médicale, CHU Bordeaux, Bordeaux, France

Mots clefs : Déficience intellectuelle ; séquençage ; panel ; exome ; design

Résumé :

Les laboratoires impliqués dans le diagnostic moléculaire des anomalies du développement, de la DI et des troubles du spectre autistique se positionnent comme des acteurs importants dans l'organisation de l'offre de soin en proposant une stratégie d'analyse par séquençage nouvelle génération. Certains laboratoires produisent des données d'exomes, complets ou bien cliniques, d'autres ont fait le choix de panels, dépassant 400 gènes ou plus restreints, dont le panel DI 44 gènes. Le développement de ces tests sur tout le territoire, malgré l'hétérogénéité des approches, a permis d'améliorer grandement l'offre de diagnostic pour la DI. Depuis 2015 s'est constitué un réseau de laboratoires au sein de l'ANPGM afin de structurer l'offre de NGS sur l'ensemble du territoire, avec le soutien des filières DéfiScience et AnDDI-Rares. Nous présentons ici la démarche entreprise par ce réseau pour intégrer les données de fréquence de mutations des gènes de DI et faire évoluer les panels dédiés à la DI non syndromique. Notre objectif est d'affiner, à la lumière des connaissances actuelles, le *core* panel commun de gènes proposé initialement (DI44 gènes), qui assure un rendement diagnostic minimal (> 10%). Ceci permettra d'optimiser l'approche NGS ciblée et de tendre vers une équité d'accès au test sur le territoire national.
La 1ère étape a consisté à dessiner l'architecture génétique de la DI en se basant sur l'expérience des centres français et les données internationales déjà publiées, qui proviennent majoritairement du projet anglais *Deciphering Developmental Disorders* (DDD, plus de 4,000 enfants) et de cohortes d'exomes publiés (plus de 10,000 analyses).
Les données issues des centres français travaillant sur l'exome ou de grands panels ciblés confirment l'importance de la *core* liste DI 44 dont les gènes atteignent 40% des diagnostics effectués. Les 10 gènes les plus fréquemment mutés sont *KMT2A, DDX3X*, *ANKRD11, MED13L*, *TCF4*, *SHANK3*, *ARID1B*, *MECP2*, *GRIN2B* et *POGZ,* représentant 19,2% des diagnostics. Cette liste est très proche de celle issue de la méta-analyse des cohortes publiées. Le rendement diagnostique sur la cohorte française est de 32%, contre 26,4% sur les données publiées. Par ailleurs, sur les 2000 gènes associés à un phénotype comportant une DI, 10% (n=195) représentent plus de 50% des diagnostics.
La 2ème étape a permis de dresser 2 listes de gènes en tenant compte des contraintes techniques et médico-économiques de chaque laboratoire participant et du cadre financier défini par la DGOS, limitant la cotation RIHN aux panels < 500 Kb : une liste de 75 gènes approchant 500 kb et une liste de 195 gènes (2ème échelon de capture < 1,5 Mb), avec respectivement un rendement attendu de 16% et 24%.
Ces 2 listes sont proposées comme base commune aux laboratoires impliqués dans le diagnostic de la déficience intellectuelle. Cette stratégie sera évaluée par le réseau dans le cadre des RCP nationales et par un rapport d'activité annuel.

P090 : Les délétions du gène NR4A2 en 2q24.1 sont associées à des troubles neurodéveloppementaux

Auteurs :

Sarah Grotto (1), Anne-Claude Tabet (2), Damien Haye (3), Alain Verloes (1), Jonathan Levy (2)

1. Unité fonctionnelle de génétique clinique, Hôpital Robert Debré (AP-HP), Paris, France
2. Unité fonctionnelle de cytogénétique, Hôpital Robert Debré (AP-HP), Paris, France
3. Unité fonctionnelle de génétique clinique, Groupe hospitalier Pitié-Salpêtrière (AP-HP), Paris, France

Mots clefs : NR4A2, troubles neurodéveloppementaux, délétion 2q24.1, déficience intellectuelle, troubles du spectre autistique

Résumé :

Les microdélétions 2q24.1 sont très rares. Elles ont été rapportées chez quelques patients présentant une déficience intellectuelle, un retard de langage ou des troubles du spectre autistique. *NR4A2* a été très récemment suggéré comme gène candidat bien qu'à ce jour, un seul cas de microdélétion n'emportant que le gène *NR4A2* a été publié. Nous rapportons l'observation de deux nouveaux patients porteurs d'une microdélétion en 2q24.1 n'incluant que le gène *NR4A2.* Le premier patient a été exploré en génétique à l'âge de 17 ans pour une déficience intellectuelle légère à modérée, associée à un trouble envahissant du développement, sans dysmorphie ni malformation majeure associée. L'analyse par SNP array (Illumina, OmniExpress 700K) a mis en évidence une délétion d'environ 122 kb *de novo* emportant la totalité du gène *NR4A2*. Le deuxième patient a été exploré en génétique à l'âge de 5 ans pour un retard de développement prédominant sur le langage, sans élément syndromique associé. Ce phénotype est également associé à une délétion d'environ 75 kb impliquant la totalité du gène *NR4A2*. Le gène *NR4A2* code une protéine membre de la superfamille des récepteurs nucléaires des hormones thyroïdiennes-stéroïdiennes et des rétinoïdes qui agit comme facteur de transcription et fortement exprimée dans le système nerveux central humain et dans le cerveau fœtal humain. Les délétions emportant le gène *NR4A2* ne sont pas rapportées comme polymorphisme dans les bases de données DGV et les mutations perte de fonction sont extrêmement rares dans ExAC. Le gène *NR4A2 (*601828)* possède un score élevé d'haploinsuffisance et n'est pas référencé en pathologie humaine. Des études ont suggéré l'association de polymorphismes du gène *NR4A2* à la maladie de Parkinson. Notre étude confirme que l'haploinsuffisance du gène *NR4A2* est responsable de troubles neurodéveloppementaux, caractérisés par un retard de langage, une déficience intellectuelle légère à modérée et des troubles du spectre autistique, sans élément syndromique associé. Nous suggérons d'inclure le gène *NR4A2* dans les panels de déficience intellectuelle.

P091 : Evaluation de la médecine génomique des épilepsies

Auteurs :

Consortium AURAGEN (1), Gaetan Lesca (2), Julien Thevenon (3)

1. GCS AURAGEN, GCS AURAGEN, Grenoble, France
2. Centre de génétique, HCL, Lyon, France
3. Centre de génétique, CHU Grenoble-Alpes, Grenoble, France

Mots clefs : Epilepsies, génétique, séquençage de génome, médico-économique

Résumé :

Les épilepsies concernent environ 0.8 à 1% de la population, avec une incidence plus importante dans l'enfance. L'implication de la génétique est majeure dans de nombreuses formes d'épilepsies. Le diagnostic étiologique d'une épilepsie débutée dans l'enfance est une information critique pour la famille et les praticiens impliqués dans la prise en charge. Les bilans étiologiques sont répétés (imagerie, EEG, examens métaboliques, examens génétiques) et comprennent des examens invasifs (biopsies, ponctions), des consultations auprès de multiples spécialistes de différents centres hospitaliers. Il existe à l'heure actuelle plus d'une centaine de gènes impliqués dans des épilepsies mendéliennes. Dans les épilepsies, maladies chroniques fortement médicalisées, le développement de traitements personnalisés est un enjeu majeur.
En France, c'est le plus souvent une approche par le séquençage de 90-100 gènes qui a été choisie en première intention, ou deuxième intention après une CGH-array. A Lyon, le panel PAGEM a été appliqué sur les prélèvements d'environ 400 patients et a permis un diagnostic dans 28% des cas. Une approche de séquençage pan-génomique devrait permettre un diagnostic pour 40-45% des patients. L'exemple du diagnostic génétique des l'épilepsies peut être considéré comme un bon reflet de l'organisation actuelle de l'organisation de l'offre diagnostic en France. Nous proposons une organisation pilote visant à rendre homogène l'accès au soin, tout en mesurant l'impact médico-économique de ce changement organisationnel.
Dans une partie rétrospective de l'étude appliquée aux patients ayant reçu un résultat de panel PAGEM, nous modéliserons les parcours de soins des patients avec ou sans diagnostic, puis appliquerons un séquençage pan-génomique afin de quantifier son impact. Dans une partie prospective de deux ans, nous mesurerons la portée diagnostique de l'examen, les possibilités de recours à des thérapeutiques personnalisées ou d'inclusion dans des essais cliniques de molécules innovantes. Une attention particulière sera donnée aux résultats pharmacogénétiques concernant les thérapeutiques anti-épileptiques.

P092 : Coexistence d'un syndrome de KBG et d'un syndrome de Kabuki lié à l'X chez un même patient.

Auteurs :

Pierre-Yves Maillard (1), Caroline Lacoste (2), Tiffany Busa (1), Brigitte Chabrol (3), Catherine Badens (2), Nicole Philip (1)

1. Centre de Référence Anomalies du Développement, Département de génétique Médicale, Hôpital d'Enfants de la Timone, APHM, Marseille, France
2. Laboratoire de Génétique Moléculaire, Département de génétique Médicale, Hôpital d'Enfants de la Timone, APHM, Marseille, France
3. Service de Neurologie Pédiatrique, CHU Timone Enfants, APHM, Marseille, France

Mots clefs : Syndrome de Kabuki, Syndrome de KBG, KDM6A, ANKRD11, double diagnostic, chromatinopathie

Résumé :

Avec l'avènement du séquençage de nouvelle génération (NGS), il est de plus en plus fréquent d'identifier chez un même individu deux variants génétiques affectant des gènes différents. Nous rapportons le cas d'un patient présentant un tableau clinique atypique lié à la présence de deux variants pathogènes dans les gènes KDM6A et ANKRD11. Les mutations du gène ANKRD11 (Ankyrin Repeat Domain-Containing Protein 11) sont responsables du syndrome KBG, syndrome génétique rare. Le syndrome de Kabuki est dû à une mutation ou une délétion dans le gène KMT2D (Histone-Lysine N-Methyltransferase 2D) en 12q13.12 dans 80% des cas, ou dans le gène KDM6A (Lysine-Specific Demethylase 6A) en Xp11.2 chez 5 à 8% des patients.e patient présentait une déficience intellectuelle (DI) sévère avec marche à 6 ans et absence de langage, des troubles majeurs du comportement avec automutilation, un syndrome dysmorphique avec brachycéphalie, visage triangulaire, oreilles proéminentes, fentes palpébrales larges, lèvre inférieure éversée, brachymésophalangie des 5ème doigts. L'histoire familiale révélait l'existence d'un oncle maternel présentant une DI modérée dans un contexte dysmorphique, ce qui avait fait évoquer une hérédité liée au chromosome X. On retrouvait aussi chez le père et le frère du cas-index des difficultés d'apprentissage et des traits dysmorphiques communs. Le séquençage d'un panel de gènes responsables de DI a permis d'identifier deux variants pathogènes, non décrits dans la littérature: une délétion hétérozygote du gène ANKRD11, c.6210delG (p.K2070fs) héritée du père et présente chez le frère et une mutation hémizygote du gène KDM6A, c.2903C > A (p.T968K) héritée de la mère. Cet enfant présentait donc deux pathologies distinctes : un syndrome KBG de transmission autosomique dominante du côté paternel et un syndrome de Kabuki lié au chromosome X de transmission maternelle. L'analyse dysmorphologique du patient a permis d'identifier rétrospectivement des signes cliniques caractéristiques de chaque syndrome. Cependant, le tableau clinique neurologique de cet enfant apparaissait beaucoup plus sévère que celui associé à chacun des deux syndromes. ANKRD11 et KDM6A sont deux gènes qui codent pour des enzymes jouant un rôle dans le remodelage de la chromatine. Bien qu'il n'existe pas d'interaction directe entre les deux protéines codées par ces gènes, des interactions multiples par l'intermédiaire des complexes histones désacétylases, HDAC 3, 4 et 5 ont été décrites. Ceci peut suggérer un mécanisme de potentialisation des effets de ces deux mutations, expliquant un tableau clinique plus sévère que ne le voudrait la coexistence des deux syndromes.

P093 : Rôle de la phosphorylation de la serine 421 de l'huntingtine dans la physiopathologie du syndrome de Rett.

Auteurs :

Yann Ehinger (1), Julie Bruyère (2), Saidi Lydia (1), Valerie Matagne (1), Laurent Villard (1), Frederic Saudou (2), Jean-Christophe Roux (1)

1. , UMR_S910, Marseille, France
2. , institut de neuroscience Grenoble, Grenoble, France

Mots clefs : Syndrome de Rett - Mecp2 - Huntingtine - BDNF - transport axonal

Résumé :

Le fonctionnement normal du cerveau repose sur la régulation fine de mécanismes transcriptionnels et épigénétiques. *MECP2* est un gène clé permettant de coupler ces deux mécanismes et sa dérégulation affecte sévèrement les fonctions neurologiques. En effets, des mutations dans le gène MECP2 sont à l'origine de maladies neurologiques dont la principale est le Syndrome de Rett (Amir et al. 1999). C'est une maladie neurologique progressive, apparaissant dans les premières années de vie, causée par des mutations dans le gène *MECP2*. Il représente la deuxième cause de déficience intellectuelle d'origine génétique chez la femme. Parmi les gènes régulés par MECP2, le *BDNF* est une neurotrophine qui joue un rôle essentiel dans la maturation eat la connectivité neuronale. Les taux de BDNF sont réduits dans les cerveaux des filles RTT et des souris modèle de RTT Par ailleurs, la surexpression de BDNF dans des cerveaux de souris modèle (RTT) permet le rétablissement partiel de la morphologie des neurones, de leur activité spontanée et de la survie des souris (Chang et al, 2006). La compensation des déficits en BDNF apparaît donc comme une voie thérapeutique majeure. Notre équipe a montré précédemment chez la souris RTT qu'une absence de Mecp2 entraine une altération du transport axonal des vésicules de BDNF dépendant de l'huntingtine (HTT) (Roux et al., 2012). Par ailleurs, la phosphorylation de l'HTT (à la position Serine 421) augmente la vitesse de transport antérograde des vésicules de BDNF dans les neurones (Colin et al, 2008).
Dans cette étude, nous avons utilisé deux approches (l'une génétique, l'autre pharmacologique) visant à stimuler la phosphorylation de l'HTT dans le but d'augmenter la biodisponibilité du BDNF à la synapse. Dans un premier temps, les deux approches ont été validées in vitro dans des neurones corticaux en étudiant le transport des vésicules de BDNF par videomicroscopie. Dans la première approche, nous avons croisé des souris knock in ayant une HTT constitutivement phosphorylée avec des souris modèle de RTT. Pour la seconde approche, nous avons traité des souris modèle de RTT avec le FK506, une molécule qui empêche la déphosphorylation de HTT. Le phénotypage in vivo (fonctions cognitives, activité motrice, respiratoire et survie) a été réalisé afin d'étudier l'effet de ces deux approches.
Nous montrons que la phosphorylation de HTT en position serine 421 corrige le déficit de transport axonal du BDNF in vitro. Elle permet d'améliorer la survie et certaines fonctions motrices et autonomes chez des souris modèles de RTT. Cette phosphorylation représente une stratégie prometteuse et sa stimulation pharmacologique apparait ainsi comme une piste thérapeutique intéressante afin de corriger certains déficits dans le syndrome de Rett.

P094 : Séquençage du gène ATP1A3 chez les patients présentant une hémiplégie alternante de l'enfant ou des troubles neurologiques apparentés.

Auteurs :

Jessica MICHEL (1), Gaetan LESCA (1, 2), Alexis ARZIMANOGLOU (3), Diane DOUMMAR (4), Hélène GUILBERT (1), Cyril MIGNOT (5), Sophie NICOLE (6), Eleni PANAGIOTAKAKI (3), Emmanuel ROZE (7), Pascal SABOURAUD (8), Damien SANLAVILLE (1, 2)

1. Laboratoire de Génétique, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
2. CNRS UMR 5292, INSERM U1028, CNRL, Université Claude Bernard Lyon 1, Lyon, France
3. Service épilepsie, sommeil, explorations fonctionnelles neurologiques, GHE, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
4. Service de Neuropédiatrie et Génétique, CHU Paris Est - Hôpital Armand-Trousseau, Paris, France
5. Service de Génétique Clinique, CHU Paris-GH La pitié Salpêtrière, Paris, France
6. Institut du Cerveau et de la Moelle épinière , CHU Paris-GH La pitié Salpêtrière, Paris, France
7. Service de Neurologie, CHU Paris Est - Hôpital Saint-Antoine, Paris, France
8. Service de Pédiatrie A, CHU Reims, Reims, France

Mots clefs : Hémiplégie Aleternante de l'Enfant, troubles neurologiques, séquençage Sanger,

Résumé :

Contexte :
L'hémiplégie alternante de l'enfant (AHC) est une maladie neurologique rare caractérisé par des épisodes transitoires d'hémiplégie/hémiparésie alternante, des accès dystoniques, des mouvements oculaires paroxystiques anormaux, des crises épileptiques et une dysautonomie, débutant habituellement au cours de la première année de vie. En 2012, des mutations du gène *ATP1A3*, codant pour la sous-unité α3 de la pompe Na+/K+-ATPase ont été identifiées comme cause principale d'AHC. Les mutations de ce gène provoquent également d'autres troubles neurologiques cliniquement liés à l'AHC: la dystonie parkinsonienne à début précoce (RDP); le syndrome de CAPOS (syndrome d'ataxie cérébelleuse-aréflexie-pieds creux-atrophie optique-surdité neurosensorielle); RECA (encéphalopathie récidivante avec ataxie cérébelleuse) et des encéphalopathies épileptiques précoces. Nous rapportons les résultats génétiques de 5 ans de diagnostic génétique chez des patients français atteints d'AHC ou de troubles apparentés.
Matériel et méthodes:
Entre 2012 et mi-2017, nous avons analysé l'ADN de 190 patients pour une recherche de mutation dans le gène *ATP1A3* par séquençage de Sanger. Depuis Octobre 2016, les patients présentant une AHC ou tout autre trouble apparenté sont orientés vers le panel PAGEM (en dehors des syndromes CAPOS).
Résultats:
Nous avons identifié une mutation pathogène ou potentiellement pathogène dans le gène *ATP1A3* chez 72 patients (38 %). Chez les patients présentant les critères cliniques d'AHC, un variant pathogène du gène *ATP1A3* est retrouvé dans environ 90% des cas. Les deux « hot spots » ont été retrouvés chez 7 patients pour le variant p.Glu815Lys et chez 15 patients pour le variant p.Asp801Asn.
La mutation p.Glu818Lys a été trouvée dans deux familles avec un diagnostic clinique de CAPOS (9 patients au total). Le p.Arg756Cys a été trouvée chez 3 patients avec un diagnostic clinique de RECA. La mutation p.Arg756His a été trouvée chez 3 patients atteint de RDP dont un variant hérité, mais aucune mutation n'a été identifiée chez les patients présentant une dystonie isolée et à début précoce.
Conclusion:
Cette étude confirme que les mutations du gène *ATP1A3* sont responsables de la plupart des cas d'AHC, de CAPOS ou de RECA. L'analyse des dossiers cliniques a permis d'identifier une dizaine de patients avec un diagnostic clinique évocateur d'AHC sans mutations dans *ATP1A3.* Ces patients ont été inclus dans une étude génétique internationale visant à identifier d'autres gènes responsables d'AHC.

P095 : Spectre phénotypique du syndrome FOXG1

Auteurs :

Nancy VEGAS (1), Mara CAVALLIN (1), Camille MAILLARD (1), Nathalie BODDAERT (1, 2), Hervé LEMAITRE (3), Tally LERMAN-SAGIE (4), Dorit LEV (5), Delphine Héron (6), Mathieu MILH (7), Marie HULLY (8), Cyril MIGNOT (6), Alice MASUREL (7), Alexandre DATTA (9), Sylvie ODENT (10), Leïla LAZARO (11), Elise Schaefer (12), Sébastient MOUTTON (13), Anne Marie Guerrot (14), Magalie BARTH (15), Stéphanie ARPIN (16), Jean Michel PEDESPAN (17), Isabelle CAUBEL (18), Thierry BIENVENU (19), Nadia BAHI-BUISSON (1, 8)

1. INSERM UMR1163, Institut Imagine, Paris, France
2. Radiologie pédiatrique, Hôpital Necker Enfants Malades, APHP, Paris, France
3. INSERM U1000, Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale, Paris, France
4. Neurologie pédiatrique, Clinic Wolfson Medical Center, Tel Aviv, Israël
5. Génétique médicale, Wolfson Medical Center, Tel Aviv, Israël
6. Département de Génétique et Centre de Référence Déficiences Intellectuelles de Causes Rares, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, APHP, Paris, France
7. Centre de Génétique et Centre de Référence Maladies Rares, Anomalies du Développement, CHU Dijon, Dijon, France
8. Neurologie pédiatrique, Hôpital Necker Enfants Malades, APHP, Paris, France
9. Pédiatrie générale, University of Basel Children's Hospital, Basel, Suisse
10. Génétique médicale, CHRU de Rennes, Rennes, France
11. Génétique médicale, Centre Hospitalier de la Côte Basque, Bayonne, France
12. Génétique médicale, Hôpitaux Universitaire de Strasbourg, Strasbourg, France
13. INSERM UMR1231, CHU Dijon, Dijon, France
14. Génétique médicale, Hôpital Universitaire de Rouen, Rouen, France
15. Service de Neurologie, Hôpital d'Angers, Angers, France
16. Génétique médicale, Hôpital Bretonneau, Tours, France
17. Neurologie pédiatrique, Hôpital Pellegrin-Enfants, Bordeaux, France
18. Pédiatrie générale, Hôpital de Lorient, Lorient, France
19. Biochimie et Génétique Moléculaire, Hôpital Cochin, Paris, France

Mots clefs : FOXG1, encéphalopathie, microcéphalie

Résumé :

La nouvelle génération de séquençage d'ADN contribue à l'amélioration des connaissances du phénotype clinique lié aux mutations *FOXG1*, initialement considéré comme une forme congénitale du syndrome de RETT. Le syndrome FOXG1 est caractérisé par une encéphalopathie sévère avec une microcéphalie congénitale et une dystonie généralisée. Les malformations cérébrales permettant de suspecter le syndrome *FOXG1* sont encore mal définies. A ce jour, la description de ce syndrome se limite à l'étude de petites cohortes de patients. L'objectif de notre étude est de définir le spectre du phénotype clinico-radiologique du syndrome FOXG1 à partir d'une large cohorte de patients.
32 patients, âgés de 19 mois à 42 ans, porteurs de mutations hétérozygotes du gène *FOXG1*, 12 faux sens, 15 frameshifts, 2 non-sens et 3 larges délétions, ont été inclus. Parmi ces mutations, deux sont récurrentes p.Glu154Glyfs*301 (n=4) et p.Gln86Profs*35 (n=2). Ces patients sont issus de 10 différents services de Pédiatrie et de Génétique français, suisses et israëliens. L'étude du phénotype clinique a porté sur les évènements pré et périnataux, le développement psychomoteur, l'examen clinique et neurologique et les critères du syndrome de RETT et de sa forme congénitale. Les analyses IRM ont porté sur l'étude du volume de la substance blanche (SB), du corps calleux (CC), et du niveau de myélinisation.
Nos observations montrent qu'une microcéphalie prénatale ou post-natale sévère précoce est systématique, avec un retard de développement et une limitation de la préhension. Les signes cliniques associés les plus marquants sont les mouvements anormaux (athétose, dystonie, myoclonie, stéréotypies, hyperkinésie, dyskinésie), présents chez tous les patients, avec une prédominance pour les dyskinésies oro-faciales (11/37), et une épilepsie (28/37). Les seuls critères mineurs de la forme congénitale du syndrome de RETT retrouvés sont : les troubles du sommeil (21/35), le bruxisme (12/26) et le retard de croissance (22/34). Aucun patient ne présente un syndrome de RETT typique. Les résultats préliminaires des IRM cérébrales montrent une simplification gyrale modérée (8/16), une réduction du volume de la SB (12/16) et une hypoplasie du CC (12/16).
Pour conclure, nos résultats préliminaires montrent une distinction claire entre le syndrome FOXG1 et la forme congénitale du syndrome de RETT. Les critères clinico-radiologiques pouvant faire suspecter un syndrome FOXG1 sont : les mouvements anormaux dont les dyskinésies oro-faciales, une microcéphalie pré ou post-natale précoce, un retard sévère du développement psychomoteur, une simplification gyrale modérée, un retard de myélinisation et une hypoplasie du CC. Enfin, les mutations p.Gln86Profs*35 (protéine tronquée en N-terminal) sont associées à un même phénotype sévère tandis que les mutations p.Glu154Glyfs*301 (protéine tronquée en C-terminal, avec conservation des domaines fonctionnels de FOXG1) semblent liées à un retard psychomoteur moins sévère.

P096 : NEW RNA polymerase III related leukodystrophy

Auteurs :

Imen Dorboz (1), Hélène DUMAY-ODELOT (2), Karima BOUSSAID (3), Yosra BOUYACOUB (4), Simon Samaan (5), Haifa JMEL (4), Claude CANCES (6), Céline BAR (6), Christophe ROUSSELLE (7), Noel PERETTI (8), Florence Renaldo (9), Monique Elmaleh (10), Martin TEICHMANN (2), Odile Boespflug-Tanguy (11, 1)

1. INSERM UMR-U1141, DHU PROTECT, Hôpital Robert Debré, Paris, France
2. Inserm U1212-CNRS UMR 5320, Université de Bordeaux, Bordeau, France
3. Department of Neuropeadiatric and metabolic diseases, Robert Debré University Hospital, APHP, Paris, France
4. LR11IPT05, Biomedical Genomics and Oncogenetics Laboratory, Institut Pasteur de Tunis, Tunis, Tunisie
5. Biologie Moléculaire, Département de Génétique, Hôpital Robert Debré, Paris, France
6. Unité de Neurologie Pédiatrique, Hôpital des Enfants, Toulouse, France
7. Hospices Cilvils de Lyon, Centre Hospitalier Lyon –Sud, Centre Hospitalier Lyon, Lyon, France
8. Gastroentérique pédiatrique, Hopital Edouard Herriot, Lyon, France
9. Service de Neuropédiatrie, , Paris, France
10. Radiologie Pédiatrique, , Paris, France
11. Service de Neuropédiatrie, Hôpital Robert Debré, Paris, France

Mots clefs : Leucodystrophy, Exome, Polymerase III

Résumé :

RNA polymerase III (POLR3)-related leukodystrophy is an autosomal recessive hypomyelinating leukodystrophy characterized by a progressive cerebellar spastic syndrome with variable age of onset and associated hypo/oligodontia and hypogonadotropic hypogonadism. This disorder is caused by mutations in *POLR3A*, *POLR3B* and *POLR1C*. Here we report two cases of patients with mutation in a gene coding for another POLR3 subunit. The affected individuals from consanguineous Algerian parents present with a Pelizaeus Merzbacher like disease with a sitting position acquired with aid (form 1) in one patient and walking with aid (Form 3) for the other before 24 months of age. A progressive degradation was observed after 5 years of age leading to bedridden patients with severe spasticity and dystonia at respectively 6 and 16 years of age. Despite gastrostomy, severe growth impairment was observed in both cases with hypogonadism in the oldest one and severe anorexia and hypodontia in the youngest one. Brain MRI showed a diffuse hypomyelinating leukodystrophy with cerebellum and subcortical /cortical atrophy at 4 y of age.
Exome sequencing combined to homozygosity mapping revealed a homozygous mutation. This variant was predicted to be deleterious, located in a highly conserved region and not detected in 492 ethnically matched control chromosomes. In silico structural and functional analysis predicted that this mutation create conformational changes in the POLR3 subunit complex. Functional studies in the patients' fibroblasts revealed an abnormal expression in ribosomal RNAs. This study confirm the role of the polymerase III in the nervous system and particularly in the white matter

P097 : De novo mutations in childhood-onset cerebellar atrophy: Insight from mutations in the calcium channel CACNA1G.

Auteurs :

Vincent Cantagrel (1)

1. Laboratory of Developmental Brain Disorders, Institut Imagine, Paris, France

Mots clefs : CACNA1G, Cav3.1, de novo mutation, cerebellar atrophy, Calcium channel, intellectual disability, ataxia, epilepsy, treatment

Résumé :

Childhood onset cerebellar atrophy is a key neuroradiological finding usually associated with cerebellar ataxia and defect in cognitive development. Unlike the adult forms, early onset cerebellar atrophies are often described as mainly autosomal recessive conditions. However, recent studies pinpoint the high prevalence of pathogenic de novo mutations in developmental disorders such as intellectual disability, autism spectrum disorders and epilepsy. Investigation of a cohort of 37 index patients with early onset cerebellar atrophy using a custom targeted next generation sequencing gene panel as well as whole exome sequencing suggests that de novo mutations are as prevalent as recessive conditions for this phenotype. Understanding if these de novo events act through a loss or gain of function effects can be critical for treatment considerations. We focused on a gene never associated with the early-onset form and identified 4 patients with de novo variants in *CACNA1G*. These patients have severe motor and cognitive impairment and variable features such as facial dysmorphisms, digital anomalies, microcephaly and epilepsy. Three subjects share a recurrent c.2881G > A/p.Ala961Thr variant and the other variant is c.4591A > G/p.Met1531Val. The *CACNA1G* gene encodes the α-1A subunit of the neuronal T-type voltage-gated calcium channel (Cav3.1) that is highly expressed in Purkinje cells and deep cerebellum nuclei. The mutations identified in this study showed drastically impaired channel inactivation and wider window current resulting in channels that remain open longer. The resulting increase in intracellular Ca^{2+} is the likely cause of Purkinje cell degeneration.
This work highlights the prevalence of de novo mutations in early-onset CBA and the critical control of Cav3.1 channel activation during CNS development. It also describes a gain of function mechanism mediating neurodegeneration and sensitive to a blocker drug suggesting that this condition is amenable to treatment.

P098 : Etude génétique des troubles du spectre autistique et de la déficience intellectuelle chez la population marocaine.

Auteurs :

Boutaina Belkady (1, 2), Rachida Cadi (2), Abdelhamid Barakat (1)

1. Laboratoire de génomique et de génétique humaine , Institut Pasteur du Maroc, Casablanca, Maroc
2. Laboratoire de Physiopathologie Génétique Moléculaire et Biotechnologie, Faculté des sciences Ain chock Université HassanII, Casablanca, Maroc

Mots clefs : Troubles du spectre autistique, déficience intellectuelle, anomalies chromosomiques, mutations génétiques, CNV

Résumé :

L'autisme est associé à des anomalies de développement du SNC, anomalies qui apparaissent donc au cours du développement fœtal, principalement au niveau des synapses. Aujourd'hui on ne parle plus d'autisme mais de troubles du spectre autistique, à cause d'une part de la variabilité des symptômes et de l'âge de leur apparition, et d'autre part de l'association avec d'autres troubles tels que le retard du développement intellectuel etc.
Ma thèse rentre dans le cadre d'un projet collaboratif entre les Instituts Pasteur de Paris, de Tunis et du Maroc, intitulé Mediteranean Autism Project (MAP).
Nous avons rassemblé une quarantaine de familles atteintes de différentes régions du royaume. On procède à un séquençage automatique pour les cas d'autisme syndromique, tandis que pour les cas isolés un génotypage sur puces à ADN (analyse des SNPs et de novoCNVs) est réalisé en France suivi d'un exom sequencing.
Actuellement nous avons trouvé un CNV hérité de la mère chez un patient marocain représenté par une délétion du gène de la Microcéphalin (MCPH1) et qui se traduirait par un retard mental chez le patient.
Nous sommes aussi entrain de désigner les anomalies chromosomiques les plus susceptibles de provoquer un retard mental chez la population marocaine en se basant sur une étude cytogénétique rétrospective qui s'étend sur les 20 dernières années.

P099 : Des variations de novo du gène NOVA2 affectent la régulation de l'épissage alternatif de gènes impliqués dans le développement du cerveau et causent une déficience intellectuelle de type Angelman-like

Auteurs :

Francesca Mattioli (1), Bertrand Isidor (2), Frédéric Tran Mau-Them (3), Sophie Nambot (3), Jean Nolween (3), Aida Telegraphi (4), Alicia Boughton (5), Candace Gamble (5), Megan Cho (4), Zohra Shad (6), Elizabeth Kaplan (6), Richard Dineen (6), Jean-Louis Mandel (1), Amelie Piton (7, 8)

1. Department of Translational Medicine and Neurogenetics, IGBMC, Illkirch, France
2. Service de Génétique Médicale, CHU de Nantes, Nantes, France, , France
3. Service de Génétique des Anomalies du Développement, CHU Dijon, Dijon, France
4. , Genedx, Gaithersburg, Etats-Unis
5. , Cook Children's Genetics, Fort Worth, Etats-Unis
6. , University of Illinois at Chicago, Chicago, Etats-Unis
7. Department of Translational Medicine and Neurogenetics, IGBMC, Illkirch , Illkirch, France
8. Laboratoire de diagnostic génétique, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France

Mots clefs : NOVA2, intellectual disability

Résumé :

Intellectual disability (ID) is a common neurodevelopmental disorder, characterized by a high genetic heterogeneity, with more than 700 genes described to be involved in monogenic forms. We performed a whole exome sequencing on a patient affected by intellectual disability, growth retardation, microcephaly, epilepsy, subcortical atrophy and traits of pyramidal syndrome as main features. We identified a *de novo* frameshift variant in *NOVA2*, a gene which has never been implicated in ID before and is highly intolerant to LoF variants (from ExAC data). NOVA2 is a neuron specific RNA-binding protein that regulates alternative-splicing events during brain development. Previous studies on knockout mice for this gene revealed that *Nova2* specifically controls the formation of alternative transcripts of known axon-guidance genes (*Saito et al. 2016*).
To prove the pathological effect of this variant, we overexpressed wild-type and mutated human NOVA2 cDNA in HeLa cells and checked the splicing of genes previously reported as regulated by *Nova2* in mouse. Preliminary results show that overexpression of wild-type NOVA2 regulates the alternative-splicing of some of these genes (NEO and APLP2) in human HeLa cells and that this regulation was altered when mutant NOVA2 was overexpressed. In parallel, we downregulated NOVA2 expression in human precursor neuronal cells using specific siRNA and observed that it also affects the splicing of these target genes.
Through data exchange we have been able to identify three additional patients with a *de novo* LoF mutation in *NOVA2* presenting with similar phenotype. Overall, the four patients carry frameshift variants that lead to truncated proteins missing the last KH domain, which is known to be involved in the RNA recognition and binding.
Overall, our study shows for the first time that LoF mutations in NOVA2 cause a syndromic form of ID with Angelman-like features, highlighting the importance of alternative-splicing regulation during brain development.

P100 : Biallelic mutations in the homeodomain of NKX6-2 underlie a severe hypomyelinating leukodystrophy

Auteurs :

Imen Dorboz (1), Chiara Aiello (2, 3), Cas Simons (4), Robert Thompson Stone (5), Marcello Niceta (3), Monique Elmaleh (6), Mohammad Abuawad (7), Diane Doummar (8, 9), Alessandro Bruselles (10), Nicole Wolf (11), Lorena Travaglini (3, 2), Odile Boespflug-Tanguy (12, 1), Marco Tartaglia (13), Adeline Vanderver (14, 15), Diana Rodriguez (8, 9), Enrico Bertini (16, 3)

1. INSERM UMR-U1141, DHU PROTECT, Hôpital Robert Debré, Paris, France
2. Unit of Neuromuscular and Neurodegenerative Disorders, Laboratory of Molecular Medicine, Bambino Gesu' Children's Research Hospital, Rome, Italie
3. Genetics and Rare Diseases Research Division, Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Rome, Italie
4. Institute for Molecular Bioscience, The University of Queensland, St Lucia,, St Lucia, Australie
5. Pediatric Multiple Sclerosis and Neuroimmunology Program, University of Rochester, Rochester, Etats-Unis
6. Radiologie Pédiatrique, , Paris, France
7. INSERM UMR-U1141, DHU PROTECT, Robert Debré University Hospital, APHP, Paris, France
8. APHP, Department of Neuropediatrics, National Reference Center for Neurogenetic Disorders, Hôpital Armand-Trousseau, Paris, France
9. GRC ConCer-LD, Sorbonne Universités, UPMC Université, Paris, France
10. Department of Oncology and Molecular Medicine, Istituto Superiore di Sanità, Rome, Italie
11. Department of Child Neurology, VU University Medical Center, Amsterdam, and Amsterdam Neuroscience, Amsterdam, Pays-Bas
12. Service de Neuropédiatrie, Hôpital Robert Debré, Paris, France
13. Genetics and Rare Diseases Research Division, Bambino Gesu' Children's Research Hospital, Rome, Italie
14. Division of Neurology, Children's Hospital of Philadelphia, Philadelphia, Etats-Unis
15. Department of Neurology, University of Pennsylvania, Pennsylvania, Etats-Unis
16. Unit of Neuromuscular and Neurodegenerative Disorders, Laboratory of Molecular Medicine, Bambino Gesu' Children's Research Hospital, Rome, Italie

Mots clefs : Leukodystrophy, Exome, Hypomyelination

Résumé :

Hypomyelinating leukodystrophies are genetically heterogeneous disorders with overlapping clinical and neuroimaging features reflecting variable abnormalities in myelin formation. We report on the identification of biallelic inactivating mutations in NKX6-2, a gene encoding a transcription factor regulating multiple developmental processes with a main role in oligodendrocyte differentiation and regulation of myelin-specific gene expression, as the cause underlying a previously unrecognized severe variant of hypomyelinating leukodystrophy. Five affected subjects (three unrelated families) were documented to share biallelic inactivating mutations affecting the NKX6-2 homeobox domain. A trio-based whole exome sequencing analysis in the first family detected a homozygous frameshift change [c.606delinsTA; p.(Lys202Asnfs*?)]. In the second family, homozygosity mapping coupled to whole exome sequencing identified a homozygous nucleotide substitution (c.565G > T) introducing a premature stop codon (p.Glu189*). In the third family, whole exome sequencing established compound heterozygosity for a non-conservative missense change affecting a key residue participating in DNA binding (c.599G > A; p.Arg200Gln) and a nonsense substitution (c.589C > T; p.Gln197*), in both affected siblings. The clinical presentation was homogeneous, with four subjects having severe motor delays, nystagmus and absent head control, and one individual showing gross motor delay at the age of 6 months. All exhibited neuroimaging that was consistent with hypomyelination. These findings define a novel, severe form of leukodystrophy caused by impaired NKX6-2 function.

P101 : GENIDA, une étude de cohortes participative sur les formes génétiques de déficiences intellectuelles et troubles du spectre autistique : les syndromes KdVS (KANSL1/17q21.31del), Kleefstra (EHMT1/9q43.3del), duplication MECP2 (Xq28dup) et KBG(ANKRD11)

Auteurs :

Florent Colin (1), Timothée Mazzucotelli (1), David A. Koolen (2), Tjitske Kleefstra (2), Hilde van Esch (3), Charlotte W. Ockeloen (2), Pierre Parrend (4), Jean-Louis Mandel (1)

1. Département de Neurogénétique et Médecine Translationnelle, IGBMC - INSERM U964 - CNRS UMR7104 - Universitée de Strasbourg, Illkirch-Graffenstaden, France
2. Departement of Human Genetics, Radboud University Nijmegen Medical Centre, Nijmegen, Pays-Bas
3. Departement of Human Genetics, University of Leuven, Leuven, Belgique
4. ECAM Strasbourg-Europe and ICube laboratory, CNRS UMR 7357, University of Strasbourg, Strasbourg, France

Mots clefs : Déficience Intellectuelle, Troubles du spectre autistique, Etude de cohorte participative

Résumé :

Many recurrent CNVs and more than 600 genes are implicated in genetic forms of intellectual disability (ID) or autism spectrum disorders (ASD), but often with limited information on the clinical spectrum and natural history. These data are essential for improving medical care and genetic counseling.
We initiated cohorts study for specific genetic causes of ID and ASD, called GENIDA (https://genida.unistra.fr), whereby clinical information is entered and updated by the family of the affected individual based on a structured clinical questionnaire (41 multiple choice questions and 92 sub-questions, 5 open text qualitative questions) that is currently available in 5 languages (English, Dutch, French, German, Portuguese). We have used Koolen-deVries syndrome (KdVS, 17q21.31del or KANSL1 mutation, 207 participants) as a test case for this approach and previously confirmed that the data collected were coherent with professional's knowledge but also identified comorbidities of potential interest. We have now expanded our curation and analyses processes to other specific conditions including Kleefstra syndrome (9q34.3 del or EHMT1 mutations, 90 participants), MECP2 duplication (Xq28dup, 46 participants) and KBG syndrome (ANKRD11 mutations, 45 participants) that we will address more particularly here.
With now 748 registered accounts on the GENIDA website, we have at least partial data on 478 patients and an average of 48 answers (equivalent to a full completion of the questionnaire) for our best 300 families (min 25 answers – max 109 answers). The recruitment is open and international (top5: 37% from the US, 25% from France, 12% from the UK, 7% from the Netherlands and 5.5% from Australia), and now includes 55 different genes defects and 34 different CNVs. It is already possible for professionals to create accounts on the GENIDA website, an effort that will soon allow them to get an access to our overall analyses, although limited to the cohorts with more than 10 participative families.
This project shows the willingness of parents to participate in studies dealing with rare diseases affecting their child. Direct comparison with data collected by clinicians allowed us to evaluate the quality of the data entered by families and search for novel and/or more penetrant comorbidities. We are actively curating the natural history analyses for the KdVS, Kleefstra, MECP2dup and KBG syndromes in collaborations with clinicians-experts for these conditions and we will present the results obtained so far.
We wish to extend this effort to all monogenic forms of neurodevelopmental disorders and are thus looking for the collaboration of clinicians in contact with families of patients with defined genetic forms of ID, ASD and/or epilepsy, willing to encourage them to register and fill the GENIDA questionnaire.
With the financial support of USIAS and Fondation de l'Université de Strasbourg.
Legal: CNIL, n°1907912v0 - 11/27/2015; Ethics: CEEI of INSERM, n°16-338 - 15/11/2016

P102 : Elargissement du spectre phénotypique dans les pathologies neurologiques dues à des mutations du gène KARS (Lysine-tRNA synthétase) par l'identification de nouvelles mutations

Auteurs :

Sophie Scheidecker (1), Séverine Bär (2), Corinne Stoetzel (1), Véronique Geoffroy (1), Béatrice Lannes (3), Bruno Rinaldi (2), Jean-Louis Dietemann (4), Marc Mirande (5), Christine Tranchant (6), Jean Muller (7), Sylvie Friant (2), Hélène Dollfus (8, 7)

1. Laboratoire de Génétique Médicale, INSERM U1112, Institut de Génétique Médicale d'Alsace (IGMA), Université de Strasbourg, Strasbourg, France
2. Department of Molecular and Cellular Genetics, UMR7156, Centre National de Recherche Scientifique , Université de Strasbourg, Strasbourg, France, STRASBOURG, France
3. Service d'Anatomo-pathologie, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Hôpital de Hautepierre, Strasbourg, France, STRASBOURG, France
4. Service de Neuroradiologie/Imagerie 2, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Hôpital de Hautepierre, Strasbourg, France, STRASBOURG, France
5. Institute for Integrative Biology of the Cell (I2BC), CEA, CNRS, Université Paris-Sud, Université Paris-Saclay, Paris, France, PARIS, France
6. Service de Neurologie , Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Hôpital de Hautepierre, Strasbourg, France, STRASBOURG, France
7. Laboratoire de Génétique Médicale, INSERM U1112, Institut de Génétique Médicale d'Alsace, Université de Strasbourg, Strasbourg, France, STRASBOURG, France
8. Centre de référence national pour les Affections Rares en Génétique Ophtalmologique (CARGO), Filière SENSGENE, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Hôpital Civil, Strasbourg, France, Strasbourg, France

Mots clefs : Maladies neurogénétiques, aminoacyl-tRNA synthetases, gène KARS

Résumé :

Des mutations de gènes codant pour des protéines ARSs (aminoacyl-tRNA synthetases), famille d'enzyme indispensable pour la synthèse protéique, ont été rapportées dans plusieurs pathologies neurologiques. Des mutations du gène *KARS,* codant pour la lysyl-tRNA synthétase, ont été décrites plus récemment dans des pathologies neurologiques et neurosensorielles. Les ARSs peuvent être divisés en 3 groupes selon la localisation cellulaire de l'aminoacylation : cytoplasmique, mitochondriale ou les deux. KARS est l'une des 3 aminoacyl-tRNA synthétase ayant un rôle bifonctionnel et sa fraction cytosolique fait partie d'un complexe multisynthétasique, le complexe MARS.
Nous rapportons une patiente présentant une atteinte neurologique et neurosensorielle sévère et porteuse de deux mutations du gène *KARS* identifiées par séquençage haut-débit de type exome.
Cette patiente a présenté un retard des acquisitions motrices et une ataxie cérébelleuse. Une surdité neurosensorielle bilatérale a été diagnostiquée au début de sa scolarité. Ses symptômes neurologiques se sont majorés avec des difficultés à la marche, un tremblement intermittent, une polyneuropathie sensitive, un syndrome pyramidal et une dystonie. L'examen ophtalmologique réalisé en raison d'une diminution progressive de l'acuité visuelle a mis en évidence une atrophie optique. Le bilan métabolique a mis en évidence une hyperlactatémie et l'IRM cérébrale réalisée à l'âge de 28 ans des anomalies de signal de la substance blanche. Ce tableau clinique s'est aggravé progressivement et la patiente est décédée à l'âge de 33 ans.
En l'absence de diagnostic moléculaire, un séquençage d'exome a été réalisé en trio et nous a permis d'identifier deux variants hétérozygotes composites du gène *KARS*. Une des mutations n'a pas été rapportée précédemment.
Des mutations bialléliques du gène *KARS* ont été décrites dans un large spectre phénotypique allant de la surdité non syndromique à des atteintes plus complexes pouvant associer en plus d'une surdité, une neuropathie périphérique, des anomalies de signal de la substance blanche et une cardiopathie. Notre patiente présentait en plus des atteintes déjà décrites, une neuropathie optique et une ataxie cérébelleuse qui n'avaient pas été rapportées.
Pour valider l'impact des mutations identifiées, nous avons réalisé une étude d'interaction en double hybride et avons montré un défaut d'interaction entre les deux formes mutantes de la protéine KARS et la protéine p38, qui sert d'ancre cytoplasmique à KARS pour la retenir dans le complexe MARS. Nous avons également observé une diminution significative du taux de protéines KARS dans les fibroblastes de la patiente, par rapport à un contrôle.
En conclusion, nous rapportons une patiente porteuse de mutations du gène *KARS* dont l'une n'avait pas été rapportée et présentant en plus d'une surdité sensorielle et d'autres atteintes neurologiques déjà décrites, une ataxie cérébelleuse et une neuropathie optique.

P103 : Stratégie d'analyse du panel de 44 gènes impliqués dans la déficience intellectuelle au CHU de Bordeaux

Auteurs :

Virginie Raclet (1), Catherine Vanicatte (1), Vincent Michaud (1), Caroline Deiller (1), Audrey Meleu (2), Aurélien Trimouille (1), Perrine Pennamen (1), Cyril Goizet (2, 3), Marine Legendre (2), Julien Van-Gils (2), Sophie Naudion (2), Laetitia Gaston (1), Eulalie Lasseaux (1), Didier Lacombe (2, 3), Benoit Arveiler (1, 3), Patricia Fergelot (1, 4)

1. Plateau technique de Biologie Moléculaire, laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU de Bordeaux, groupe hospitalier Pellegrin, Bordeaux, France
2. Service de Génétique Médicale, CHU de Bordeaux, groupe hospitalier Pellegrin, Bordeaux, France
3. Laboratoire MRGM, INSERM U1211, Université de Bordeaux, Bordeaux, France
4. Laboratoire MRGM, INSERM U1211, CHU de Bordeaux, groupe hospitalier Pellegrin, Bordeaux, France

Mots clefs : Panel DI44, Déficience intellectuelle, NGS, Sophia Genetics

Résumé :

La déficience intellectuelle (DI) constitue le handicap sévère le plus fréquent de l'enfance, et touche environ 1 million d'individus dans la population française. Diagnostiquée le plus souvent avant l'âge de 18 ans, la déficience intellectuelle se traduit, selon les termes de l'Organisation mondiale de la Santé, par une « capacité sensiblement réduite de comprendre une information nouvelle ou complexe et d'apprendre à appliquer de nouvelles compétences ». Les formes génétiques représentent 45% des cas. Tous les modes de transmission génétique peuvent être observés : lié à l'X, autosomique récessif, autosomique dominant ou dominant *de novo*. Le diagnostic moléculaire est alors indispensable pour établir avec certitude le risque de récurrence au sein d'une famille.
Depuis 2015, en cas de déficience intellectuelle isolée (avec ou sans épilepsie ou troubles du spectre autistique) avec ACPA normale, il peut être proposé de **séquencer en parallèle les 44 gènes considérés comme les plus fréquemment impliqués dans la DI.** Le rendement diagnostique de ce panel de gènes, appelé panel DI44, a été estimé à environ 10 à 12%.
Nous rapportons ici l'expérience du CHU de Bordeaux, sur la mise en place de ce panel avec la technologie Ion Torrent (ThermoFisher Scientific) et l'analyse bioinformatique sur la plateforme SOPHiA DDM®. Le séquençage couvrant 182 Kb est effectué à partir de librairies de 1112 amplicons, multiplexés en 2 pools d'amorces. Entre août 2016 et août 2017, le séquençage de ce panel a été réalisé chez 126 patients, adressés par le service de Génétique du CHU de Bordeaux, centre de référence de la filière AnDDIRares et centre de compétence de la filière DefiScience. Les données ont été analysées en parallèle par la Torrent Suite et par un logiciel développé par SOPHIA Genetics, disponible sur la plateforme SOPHiA DDM® dédiée à la génomique clinique. SOPHiA DDM® intègre des fonctionnalités d'analyses secondaire et tertiaire facilitant la visualisation et l'interprétation des variations nucléotidiques tout en assurant la protection des données génomiques cliniques. Les variations ont été vérifiées par séquençage Sanger et leur statut *de novo* recherché. Tous les types de mutations ont été retrouvés avec 5 non-sens, 4 delins, 2 variants d'épissage (+1) et 6 faux-sens dans 12 gènes différents dont 2 fois dans *ARID1B*, *GRIN2B*, *KMT2A, MED13L* et *SATB2*. Au total, ce sont 17 variations avec probable impact fonctionnel (ACMG : likely pathogenic ou pathogenic) qui ont été validées, dont 2 trouvées par séquençage Sanger dans une région insuffisamment couverte du gène *ARID1B*. Un diagnostic moléculaire a ainsi pu être rendu pour 17 patients, soit un rendement diagnostic de 13.5 %.
Ce panel de 44 gènes permet d'établir un diagnostic pour la déficience intellectuelle de cause génétique chez les personnes touchées, dont un taux élevé, jusqu'à 60% des cas, ne bénéficient pas d'un diagnostic étiologique de leur pathologie.

P104 : Anomalie fonctionnelle de UBA5 dans un cas d'encéphalopathie myoclonique précoce

Auteurs :

Cécile Ravix (1), Charlotte Sophia Kaiser (2), Mathieu Milh (3, 4), Florence Riccardi (4, 5), Pierre Cacciagli (4, 5), Tiffany Busa (6), Majdi Nagara (7), Eva Liebau (8), Laurent Villard (4, 5)

1. UMR_S 910, Faculté de Médecine La Timone, INSERM, Université Aix-Marseille , Marseille , France
2. Department of Molecular Physiology, Westfälische Wilhelms-University Münster, Münster, Allemagne
3. Service de Neurologie Pédiatrique , Hôpital La Timone, CHU de Marseille, Marseille, France
4. UMR_S 910, INSERM, Faculté de Médecine La Timone, Université Aix-Marseille, Marseille, France
5. Service de Génétique Médicale, Hôpital La Timone, CHU de Marseille, Marseille, France
6. Département de Génétique Médicale, Hôpital de la Timone-Enfant, CHU de Marseille, Marseille, France
7. UMR_S 910, Faculté de Médecine La Timone, INSERM, Université Aix-Marseille, Marseille, France
8. Department of Molecular Physiology, Westfälische Wilhelms-University Münster, Münster, France

Mots clefs : UBA5, Encéphalopathie Epileptique Précoce, Encéphalopathie Myoclonique Précoce, « burst-suppression », Ufmylation, UFM1

Résumé :

Récemment, des variations pathogéniques récessives du gène *UBA5* ont été décrites chez 13 individus présentant une encéphalopathie épileptique précoce (Muona et al. 2016, Colin et al. 2016, Arnadottir et al. 2017). Il s'agit toujours de l'association en trans de la variation faux-sens p.Ala371Thr (hypomorphe) et d'une variation de type perte de fonction. Le gène UBA5 code pour une enzyme activatrice qui intervient dans la modification post-traductionnelle des protéines appelée « ufmylation ».
Nous avons assemblé une cohorte de 77 patients avec une encéphalopathie épileptique précoce associée à un profil EEG de type « burst-suppression ». Le séquençage d'exome en trio pour une de ces familles a révélé un variant faux-sens homozygote p.Tyr53Phe dans le gène *UBA5* chez un patient ayant présenté un tableau très sévère d'encéphalopathie myoclonique précoce. Il s'agit d'un enfant issu de parents cousins germain. La grossesse s'est déroulée normalement. Le patient est né à terme avec des paramètres de naissance dans la norme (PC au 25e percentile). D'emblée, une mauvaise adaptation néonatale (score d'Apgar à 8 à la cinquième minute de vie) et une hypotonie globale sévère ont été observés. Les premières manifestations épileptiques ont débuté à la troisième heure de vie par des mouvements cloniques des membres supérieurs et de la mâchoire. Le patient a été transféré en réanimation néonatale pour prise en charge d'un état de mal convulsif résistant aux traitements antiépileptiques. Les enregistrements EEG ont permis d'observer un tracé très pauvre et discontinu, de type « burst-suppression ». Certaines bouffées d'activité étaient accompagnées de myoclonies parcellaires ou massives. Le bilan métabolique et l'IRM cérébrale n'ont pas mis en évidence d'anomalie spécifique. Le patient est décédé à 16 jours de vie.
Selon les critères du Collège Américain de Génétique Médicale et de Génomique (Richards et al. 2015), le variant p.Tyr53Phe est classé comme de signification inconnue. Nous avons décidé d'étudier les conséquences fonctionnelles de ce variant sur la protéine UBA5. Nous mettons en évidence une réduction de plus de 90% de l'activité enzymatique *in vitro*. L'impact fonctionnel est beaucoup plus marqué que celui observé pour les variants faux-sens p.Ala371Thr et p.Met57Val précédemment étudiés. L'importance de l'atteinte fonctionnelle peut être corrélée à la sévérité du phénotype clinique. Nous décrivons le premier variant faux-sens homozygote du gène *UBA5* à l'origine d'un phénotype très sévère d'encéphalopathie myoclonique précoce avec « burst-suppression ». Des études approfondies de la voie de l'ufmylation sont nécessaires pour permettre de comprendre comment cette variation pathogène dans le gène UBA5 est à l'origine d'une épilepsie aussi sévère.

P105 : Diagnostic génétique des encephalopathies épileptiques : l'apport du séquençage à hait débit

Auteurs :

Gobin Stéphanie (1), Giulia Barcia (1), Emilie Azouguene (1), Nicole Chemaly (2), cécile fourrage (1), sylvain hanein (3), Marie Hully (4), mélodie aubart (4), Laura Routier (2), Christine Barnerias (2), Nadia Bahi-Buisson (2), Desguerre Isabelle (2), Jean-Paul Bonnefont (1), Anna Kaminska (2), Julie Steffann (1), Rima Nabbout (2)

1. Génétique Médicale, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France
2. Neuropédiatrie, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France
3. Institut Imagine, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France
4. Neuropédiatrie, Hôpital Necker Enfants Malades, paris, France

Mots clefs : Encéphalopathies épileptiques, NGS

Résumé :

Introduction : Les encéphalopathies épileptiques (EE) constituent un groupe de pathologies cliniquement et génétiquement hétérogènes, où l'activité épileptique (répétition des crises épileptiques et/ou anomalies électro-encéphalographiques) est responsable d'une atteinte cognitive, sensorielle et motrice (Berg et al., 2010). L'identification des bases génétiques et physiopathologiques des EE a significativement évolué lors des dernières années grâce à d'introduction du séquençage à haut débit. Nous avons transféré cette stratégie au laboratoire de diagnostic.
Méthodes : Un panel de séquençage à haut débit ciblé de 151 gènes impliqués dans les épilepsies de l'enfant a été appliqué à 162 patients (82 filles, 80 garçons) atteints de syndromes épileptiques classifiés chez 61% des patients et d'épilepsies non classifiées chez 39%. L'âge moyen au début des crises était de 9 mois (range :1 jour-7 ans). Des malformations cérébrales, des causes acquises et des maladies métaboliques ont été exclues chez tous les patients étudiés.
Résultats : Nous avons identifié des variants pathogènes/probablement pathogènes chez 60/162 patients (37%) avec une majorité de variants de novo. La technique de NGS ciblé a permis la détection de délétions et duplications exoniques, ainsi que l'identification d'un variant présent en mosaïque à taux faible (8%) et d'un variant qui n'avait pas été détecté par séquençage Sanger. Les phénotypes électro-cliniques pour lesquels le rendement diagnostique est le plus élevé sont l'épilepsie avec crises focales migrantes du nourrisson, les EE néonatales avec « suppression-bursts » et les EE néonatales non classifiées avec des variants causales identifiés respectivement chez 83%, 57% et 48% des patients.
Conclusions : Avec un rendement global de 37%, le NGS ciblé est une stratégie efficace pour le diagnostic moléculaire des épilepsies de l'enfant et, spécialement, des EE néonatales. Cette approche permet l'identification de délétions et duplications exoniques ainsi que de variants présents en mosaïque à taux faible. Un phénotypage électroclinique précis est indispensable afin d'identifier les groupes des patients chez lesquels le rendement diagnostique est meilleur et afin d'orienter l'analyse moléculaire selon le suspicion clinique. Le choix d'une analyse par WES ou NGS ciblé doit être envisagée dans les situations où le phénotypage est peu contributif. Chez les patients atteints d'EE, un diagnostic moléculaire peut permettre une orientation du traitement pharmacologique. Les résultats obtenus dans cette cohorte ont également permis la réalisation d'un diagnostic prénatal chez 6 familles.

P106 : Analyse d'exomes de 26 familles présentant une paraplégie spastique héréditaire ou une ataxie cérébelleuse.

Auteurs :

Claire-Sophie Davoine (1), Marie Coutelier (1), Victorine Watterlot (1), Ganapathivarma Saripella (2), David Tregouet (2), Jean-François Deleuze (3), Livia Parodi (4), Christelle Tesson (4), Elodie Petit (4), Alexis Brice (4), Alexandra Durr (4), Giovanni Stevanin (1)

1. Institut du Cerveau et de la Moelle épinière, ICM, EPHE, 47 Bd de l'Hôpital, 75013, Paris, France
2. ICAN, CHU Pitié-Salpêtrière, Paris, France
3. , CNG, Evry, France
4. Institut du Cerveau et de la Moelle épinière, ICM, CHU Pitié-Salpêtrière, 47 Bd de l'Hôpital, 75013 , Paris, France

Mots clefs : Paraplégies Spastiques Héréditaires, Ataxies Cérébelleuses, exome

Résumé :

Les paraplégies spastiques héréditaires (PSH) et les ataxies cérébelleuses héréditaires sont des maladies neurodégénératives hétérogènes cliniquement et génétiquement, mais présentant des signes cliniques et des gènes causaux chevauchants.
Le tableau clinique des paraplégies spastiques héréditaires 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. Des mutations ont été décrites dans plus de 70 gènes, mais ne correspondant qu'à respectivement 62% et 47% des patients atteints de forme autosomique dominante et récessive.
A l'autre bout du spectre clinique, les ataxies cérébelleuses héréditaires présentent un syndrome cérébelleux associé à d'autres atteintes variables telles qu'un syndrome pyramidal ou des signes extrapyramidaux. Elles se transmettent selon tous les modes héréditaires mendéliens. Les formes dominantes les plus fréquentes sont causées par des expansions de polyglutamines dans plusieurs protéines. Viennent ensuite des expansions nucléotidiques introniques, puis des mutations classiques. Dans les formes récessives, mis à part l'expansion GAA intronique du gène FRDA, la plupart des mutations sont conventionnelles. Au total, plus de 100 gènes ou loci sont décrits, mais, chez 40% des patients, aucune mutation causale n'est identifiée.
Afin d'identifier de nouveaux gènes responsables de ces pathologies ou de déterminer les gènes connus impliqués dans les familles de notre banque, nous avons étudié 64 patients issus de la cohorte SPATAX. Il s'agit de 24 patients atteints de PSH (10 familles), 24 patients atteints d'ataxies cérébelleuses de forme autosomique dominante (ADCA) (8 familles) et 16 patients atteints d'ataxies cérébelleuses de forme autosomique récessive (ARCA) (8 familles).
Ces 64 patients ont été sélectionnés car ils font partie de grandes familles, dans lesquelles les principaux gènes causaux avaient été exclus, et pour certains une analyse de liaison génétique du génome entier réalisée par puce SNP était disponible. L'exome de ces patients a été séquencé et aligné à la version hg19 du génome. Après une analyse bio-informatique, les variants ont été filtrés et priorisés, puis vérifiés par séquençage Sanger chez les patients et leurs apparentés disponibles afin d'établir la ségrégation du variant.
L'interprétation de ces données est en cours, mais à l'heure actuelle, des mutations de 8 gènes connus ont été retrouvées dans nos familles et 45 gènes candidats sont en cours d'investigation dont au moins 3 sont des mutations uniques ségregeant dans leurs familles respectives et représentent donc de nouveaux gènes causaux. Ainsi 11 des 26 familles sont expliquées à ce jour.

P107 : Ataxie congénitale révélant une « KIF1Apathie ». A propos de 10 patients

Auteurs :

Alexandra Afenjar (1, 2), Damien Haye (3), Magalie Barth (4), Thierry Billette (5, 2), Catherine Garel (6), Fabienne Giuliano (7), Agnès Guët (8), Boris Keren (9), Cyril Mignot (10, 11), Gaële Pitelet (12), christelle Rougeot-Jung (13), Pascal Sabouraud (14), Stéphanie Valence (15, 16), Diana Rodriguez (17, 18), Lydie Burglen (3, 19)

1. CRMR des malformations et maladies congénitales du cervelet,CRMR déficiences intellectuelles de causes rares, Département de génétique et embryologie médicale, GH Trousseau, APHP, Paris, France
2. GRC ConCer-LD, Sorbonne Universités, UPMC Universités, Paris, France
3. CRMR des malformations et maladies congénitales du cervelet, Département de génétique et embryologie médicale, GH Trousseau, APHP, Paris, France
4. Département de génétique, CHU Angers, Angers, France
5. Service de neuropédiatrie - Pathologie du développement, CRMR des déficits intellectuels de causes rares, GH Trousseau, APHP, Paris, France
6. Service de radiologie, GH Trousseau, APHP, Paris, France
7. Service de Génétique Médicale, CHU Nice, Nice, France
8. Services de néonatologie et de pédiatrie, Hôpital Louis-Mourier, APHP, Colombes, France
9. Département de Génétique, UF de Génomique du développement, GH Pitié-Salpêtrère, APHP, Paris, France
10. Département de Génétique, CRMR Déficiences Intellectuelles de Causes Rares, GH Pitié-Salpêtrère, APHP, Paris, France
11. GRC UPMC , Sorbonne Universités, UPMC Universités, Paris, France
12. Service de Pédiatrie, CHU-Lenval, Nice, France
13. Departement de neuropédiatrie, CRMR déficience intellectuelle de cause rare, Centre de compétence malformations et maladies congénitales du cervelet, CHU de Lyon, Lyon, France
14. Service de Pédiatrie, CHU Reims, Reims, France
15. Service de neuropédiatrie - CRMR malformations et maladies congénitales du cervelet , GH Trousseau, APHP, Paris, France
16. GRC ConCer-LD, Sorbonne Universités, UPMC Université, Paris, France
17. Service de neuropédiatrie - Pathologie du développement, CRMR malformations et maladies congénitales du cervelet, GH Trousseau, APHP, Paris, France
18. INSERM U114, 1DHU PROTECT, INSERM, Hôpital Robert Debré, Paris, France
19. INSERM U1141,DHU PROTECT, INSERM, Hôpital Robert Debré, Paris, France

Mots clefs : Ataxie congénitale, atrophie cérébelleuse, atrophie optique, neuropathie périphérique, spasticité, gène KIF1A

Résumé :

Le gène *KIF1A* code pour une Kinésine, protéine motrice impliquée dans le transport des vésicules synaptiques le long des axones. Des mutations de ce gène ont initialement été rapportées à l'origine de paraplégie spastique héréditaire (SPG30) et de neuropathie sensitive (HSAN2) de transmission autosomique récessive. A partir de 2014, plusieurs auteurs rapportent des mutations hétérozygotes de novo de *KIF1A* comme responsables d'une pathologie neurodégénérative associant retard de développement précoce puis atrophie optique, spasticité et atrophie cérébelleuse. Nous rapportons ici 10 nouveaux patients dont la présentation initiale a été une ataxie congénitale. L'étude par NGS chez ces patients a permis l'identification d'un variant hétérozygote de KIF1A, situé pour tous dans le domaine moteur, inconnu de la base GnomAD et prédit pathogène par plusieurs logiciels de prédiction. Pour 6 patients le variant est survenu de novo. Dans 2 familles (4 patients), le variant a été retrouvé chez l'un des parents, asymptomatique, à l'état de mosaïque. Nous décrirons le tableau clinique et radiologique de nos patients comparés à ceux de la littérature afin de préciser le spectre phénotypique associé aux mutations de ce gène et surtout les symptômes initiaux qui permettent de l'évoquer.

P108 : Des mutations du gène NARS causent à la fois une forme dominante (de novo) et récessive de déficience intellectuelle avec microcéphalie

Auteurs :

Jean-Louis Mandel (1), David Koolen (2), Andreea Manole (3), Francesca Mattioli (1), Amelie Piton (4, 5), Megan Cho (6), John Vincent (7), Muhammad Ayub (8), Muhammad Ansar (9)

1. Department of Translational Medicine and Neurogenetics, IGBMC, Illkirch, France
2. Departement of Human Genetics, Radboud University Medical Center, Nijmegen , Pays-Bas
3. Institute of Neurology, University College London, London, Royaume Uni
4. Department of Translational Medicine and Neurogenetics, IGBMC, Illkirch , Illkirch, France
5. Laboratoire de diagnostic génétique, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
6. , Genedx, Gaithersburg, Etats-Unis
7. Centre for Addiction and Mental Health, Departement of Psychiatry, University of Toronto, Toronto, Canada
8. Department of Psychiatry, Queen's university, Kingston, Canada
9. Department of Genetic Medicine and Development, University of Geneva, Geneva, Suisse

Mots clefs : NARS

Résumé :

We are using a custom gene panel (now 475 genes) for molecular diagnosis of ID and have completed analysis of 1000 patients (including our published 106 patients using a 220 genes panel, Redin et al. 2014, Piton et al. unpublished). For some patients with no convincing causal variant, we perform exome trio analysis. This has allowed identification of novel ID genes (BRPF1, Mattioli et al. 2017, NOVA2 and others, in preparation).
Using this strategy, we detected in a patient with severe ID, a *de novo* loss of function variant (R534X) in the NARS gene encoding a necessary enzyme for translation (asparagine tRNA synthetase). However, looking in ExAC or GnomAD databases, many LoF variants have been identified all along the NARS coding sequence, including the very close R522X found 5 times in GnomAD. NARS pLI score of 0.00 would exclude a priori involvement in a dominant by haploinsufficiency form of severe ID. The R534X variant was thus considered as likely non-pathogenic, but was nevertheless submitted to GeneMatcher. This was successful as we learned that the same *de novo* variant had been observed in 3 patients by D. Koolen and col. in Nijmegen. The phenotype (severe ID, microcephaly, ataxia and/or spasticity, seizures) was very consistent in the 4 patients. Furthermore we learned that A. Manole and H. Houlden had identified several recessive cases with homozygous or compound heterozygous mutations in NARS, and further recessive cases were uncovered by GeneMatcher and contacts with GeneDx and other colleagues. Currently, we are aware of 5 cases with the *de novo* R534X mutation, 11 cases in 4 families homozygotes for a R545C missense, indicating a founder effect, and 7 other recessive cases. Interestingly, two of the NARS missenses found in compound heterozygotes have allele frequencies in Europeans or in Ashkenazy jews that would seem to exclude them as pathogenic recessive alleles for a very rare condition. We discuss hypotheses for these peculiar features (pLI, frequent recessive alleles). Functional studies are performed by A. Manole and by H. Becker's lab in Strasbourg.

P109 : Rare RNF213 variants located in the c-term region encompassing the RING domain are associated with Moyamoya in Caucasians

Auteurs :

Stéphanie GUEY (1), Markus Kraemer (2), Dominique Hervé (3), Thomas Ludwig (4), Manoelle Kossorotoff (5), Françoise Bergametti (1), Jan Claudius Schwitalla (2), Simone Choi (1), Lucile Broseus (1), Isabelle Callebaut (6), Emmanuelle Genin (4), Consortium FREX (4), Elisabeth Tournier-Lasserve (1, 7)

1. INSERM UMR-1161, Université Paris Diderot, Paris, France
2. Departement of Neurology, Alfried-Krupp-Hospital, Essen, Allemagne
3. Service de Neurologie, Groupe Hospitalier Saint-Louis Lariboisiere, Paris, France
4. INSERM U1078, Université de Bretagne Occidentale, Brest, France
5. French Center for Pediatric Stroke and Pediatric Neurology Department, University Hospital Necker-Enfants malades, Paris, France
6. UMR CNRS 7590 UPMC Univ Paris 06, Museum d'Histoire Naturelle IRD UMR 206, Paris, France
7. Service de Génétique Moléculaire Neurovasculaire, APHP Saint-Louis Lariboisière, Paris, France

Mots clefs : Moyamoya RNF213 Ring finger

Résumé :

Background and Aims
Moyamoya angiopathy (MMA) is in East Asian countries strongly associated with the R4810K variant in RNF213 gene . This variant has never been detected in Caucasian patients. We aim to investigate if rare RNF213 variants are significantly associated with Moyamoya in Caucasian patients.

Method
73 European Caucasian MMA patients and 577 controls from the French EXome project were included. Whole exome sequencing was performed in all subjects. A principal component analysis was performed with > 16,000 SNP to ensure that patients and controls were ethnically matched. Association was tested using the fixed threshold collapsing method. Only functional variants with a minor allele frequency < 0.01 were considered. The likelihood ratio (LR) statistics proposed by Ionita-laza et al. was used to test the presence of a region within RNF213 that would be significantly enriched in rare coding variants

Results
We showed a significant association between rare missense RNF213 variants and MMA in Caucasian patients (OR)=2.23, 95% confidence interval (CI)=[1.18-4.08], p=0.01). Probands variants had significantly higher pathogenicity scores and preferentially clustered in a c-terminal hotspot encompassing RNF213 RING domain (p<10-3).This association was even stronger in childhood-onset and familial cases (OR=3.76, 95% CI=[1.46-9.29], p=0.003).

Conclusion
We provided significant evidence for the role of rare, non-R4810K, variants in the development of MMA in Caucasian patients, especially when located in the c-terminal part of the protein. Elucidation of the functional consequences of these rare missense variants upon the binding of RNF213 to its so far unknown substrates would be of major importance for the understanding of MMA mechanisms.

P110 : Hétérogénéité génétique de l'épilepsie avec crises focales migrantes du nourrisson : étude d'une large cohorte Française

Auteurs :

Giulia Barcia (1), Mathieu Kuchenbuch (2), Nicole Chemaly (3), Gobin Stéphanie (1), Marie Hully (4), Laetitia Lambert (5), Viorica Ciorna (6), Jean-Paul Bonnefont (1), Anna Kaminska (3), Stephane Auvin (7), Matthieu Milh (8), Rima Nabbout (3)

1. Génétique Médicale, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France
2. Neuropédiatrie, CHRU rennes, rennes, France
3. Neuropédiatrie, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France
4. Neuropédiatrie, Hôpital Necker Enfants Malades, paris, France
5. Génétique Médicale, CHRU Nancy, Nancy, France
6. Génétique Médicale, CHR Metz, Metz, France
7. Neuropédiatrie, Hopital Robert Debré, paris, France
8. Neuropédiatrie, Hopital la Timone, Marseille, France

Mots clefs : KCNT1, crises focales migrantes

Résumé :

Introduction : L'épilepsie avec crises focales migrantes du nourrisson (EMFSI) est un syndrome épileptique rare caractérisé par des crises i) qui débutent dans les premiers mois de vie, ii) à départ de régions corticales différentes (« migrantes »), iii) pharmacorésistantes et iv) associées à un retard cognitif profond. Des mutations dans le gène KCNT1 sont identifiées chez environ 50% des patients atteints d'EMFSI. Plus rarement, des mutations dans les gènes SCN8A, SCN2A, SCN1A, TBCD124D, SLC25A22, SLC12A5, QARS ont été décrites.
Méthodes : Nous rapportons 27 nouveaux patients atteints d'EMFSI chez lesquels une étude par séquençage Sanger du gène KCNT1 ou par séquençage NGS ciblé a été réalisée. Nous décrivons les caractéristiques génétiques et cliniques de cette cohorte.
Résultats : Des variants pathogènes dans le gène KCNT1 ont été identifiées chez 14/27 patients (52%). La majorité des variants détéctés dans cette cohorte ont déjà été décrits dans la littérature et associées à un gain de fonction du canal KCNT1, confirmant la présence de différents « hotspots » dans ce gène. Tous les variants identifié sont survenus de novo à exception du variant p.R398G identifié chez un patient atteint d'EMFSI, chez son père atteint d'épilepsie avec crises frontales nocturnes (ADNFLE), et chez son oncle ayant présenté une seule crise généralisée. Chez les patients pour lesquels l'analyse de KCNT1 s'est avérée négative, une étude par NGS ciblé des gènes impliqués dans les épilepsies de l'enfant a permis d'identifier des mutations dans les gènes PIGA (2 patients), SCN8A (1 patient), ALDH7A1 (1 patient).
Conclusions : Des mutations dans le gène KCNT1 sont impliquées dans la majorité des cas d'EMFSI dans cette série où nous confirmons la présence de plusieurs mutations récurrentes. Nous décrivons une expressivité variable au sein d'une même famille où plusieurs individus atteints de phénotypes différents portent la même mutation du gène KCNT1. Nous décrivons pour la première fois l'implication dans l'EMFSI des gènes PIGA, préalablement associé aux l'encéphalopathies épileptiques avec « suppression-burst », et ALDH7A1, associé au épilepsies pyridoxine-dépendantes.

P111 : Identification d'une mutation régulatrice du gène GDNF dans une neuropathie sensitive chez le chien et recherche de variants chez l'Homme.

Auteurs :

Solenne Correard (1), Jocelyn Plassais (1), Laëtitia Lagoutte (1), Manon Paradis (2), Nadine BOTHEREL (3), Benoit Hedan (1), Eric Guaguère (4), Ines Mademan (5), Agnes Mereau (6), Anne-Sophie Lia (7), Christophe Hitte (8), Nathalie Bonello-Palot (9), Pascale Quignon (10), Sylvie Odent (11), Yline Capri (12), Julien Cassereau (13), Vincent Timmerman (14), Valerie Delague (15), Emmanuelle Bourrat (16), Dominique Bonneau (17), Jean-Michel Vallat (18), Eric Leguern (19), Thomas Derrien (8), Catherine André (10)

1. Equipe Génétique du Chien, UMR6290/CNRS/Université de Rennes 1, Rennes, France
2. Department of Clinical Sciences, Faculté de Médecine Vétérinaire - University of Montreal, St-Hyacinthe, Canada
3. Equipe Génétique du Chien, UMR6290/CNRS/Université de Rennes 1, RENNES, France
4. , Clinique Vétérinaire Saint Bernard, Lomme, France
5. Neurogenetics Group, Center for Molecular Neurology, VIB, Antwerpen, Belgique
6. Equipe "Expression Génétique de Développement", UMR6290/CNRS/Université de Rennes 1, Rennes, France
7. Laboratoire de Biochimie et Génétique Moléculaire, CHU Dupuytren, Limoges, France
8. Equipe "Génétique du chien" - IGDR, UMR6290/CNRS/Université de Rennes 1, Rennes, France
9. Laboratoire de génétique moléculaire, Centre de référence maladies rares Thalassémies, Hôpital de la Timone, AP-HM, Marseille, France
10. Equipe , UMR6290/CNRS/Université de Rennes 1, Rennes, France
11. Service de génétique, CHRU de Rennes, Rennes, France
12. Department of Genetics, hôpital Robert-Debré, AP-HP, Paris, France
13. Reference Centre for Neuromuscular Diseases, Department of Neurology, University Hospital of Angers, Angers, France
14. Peripheral Neuropathy Research Group, Institute Born Bunge, University of Antwerp, Antwerp, Belgique
15. Inserm, UMR_S 910, Aix Marseille Université, GMGF, Marseille, France
16. Service de Dermatologie, AP-HP, Université Paris VII Sorbonne Paris Cité, Hôpital Saint-Louis, Paris, France
17. Service de génétique, plateau de biologie hospitalière, CHU d'Angers, Angers, France
18. Department of Neurology, National Reference Center for Rare Peripheral Neuropathies, Limoges University Hospital, Limoges, France
19. Institut du Cerveau et de la Moelle épinière, ICM, Department of Genetics, Pitié-Salpêtrière Hospital, Public Hospital Network of Paris, Paris, France

Mots clefs : Neuropathie sensitive, NGS, Modèle génétique, Chien, GDNF

Résumé :

Chez l'Homme, il existe de nombreuses formes de neuropathies sensitives, associées ou non à une perte de sensibilité à la douleur et accompagnées parfois d'automutilation. Bien qu'à ce jour 13 gènes aient déjà été impliqués dans cette maladie, ils n'expliquent pas les causes génétiques de l'ensemble des patients. Des neuropathies similaires existent chez le chien où plusieurs races sont prédisposées à certaines formes. Cette prédisposition génétique est due à la consanguinité et à l'utilisation massive de chiens champions pour la reproduction. Une neuropathie a été décrite chez le chien de chasse, les signes cliniques se traduisant par une insensibilité à la douleur observée uniquement au niveau des pattes et accompagnée la plupart du temps de mutilations. L'étude de pedigrees a permis d'identifier un mode de transmission autosomique récessif. Des prélèvements sanguins de chiens de chasse indemnes et atteints ont été collectés par la biobanque cani-DNA (dog-genetics.genouest.org). Des études génétiques (GWAS et séquençage) ont permis l'identification d'un locus, puis d'une mutation 90kb en amont du gène *GDNF* qui code un facteur neurotrophique impliqué, entre autres, dans la survie des neurones dopaminergiques. Cette mutation régulatrice ségrège comme attendu chez 300 chiens de chasse de statut clinique connu et est absent du génome de 900 chiens d'autres races non prédisposées. Des expériences fonctionnelles ont montré que la mutation entraine une diminution du taux d'expression de *GDNF* dans les ganglions dorsaux et que la mutation diminue l'affinité d'un complexe régulateur pour la séquence d'ADN à laquelle il se fixe (Plassais *et al.*, 2016). Ce gène n'ayant pas encore été impliqué dans des formes de neuropathies sensitives chez l'Homme, il s'avère un bon candidat. Grâce aux centres de références, nous avons collecté 111 ADNs de patients atteints de différentes formes de neuropathies sensitives et avons séquencé les exons de *GDNF* ainsi que deux régions prédites comme régulatrices, orthologues à la région régulatrice mutée chez le chien.
23 variants ont été identifiés et classés:
(i) Nouveaux variants (non répertoriés dans les bases de données humaines).
(ii) Variants rares (répertoriés dans les bases de données avec une fréquence inférieure à 1%).
Malheureusement, aucun nouveau variant n'a été mis en évidence dans les parties codantes du gène. Cependant, 6 nouveaux variants ont été identifiés dans les UTR et les régions régulatrices en amont de *GDNF* et 17 variants rares ont aussi été répertoriés. Tous ces variants sont en cours d'analyse. En conclusion, le modèle chien a permis d'identifier un nouveau gène

pour les neuropathies sensitives canines et potentiellement humaines. Ce gène sera inclus dans les futurs panels de diagnostic des neuropathies humaines.

Plassais et al. 2016. A point mutation in a lincRNA upstream of GDNF is associated to a canine insensitivity to pain: a spontaneous model for human sensory neuropathies. Plos Genetics 2016

P112 : Description phénotypique du syndrome de duplication du gène MECP2 chez 59 patients français : focus sur les caractéristiques morphologiques et neurologiques

Auteurs :

Marguerite MIGUET (1), Laurence FAIVRE (2), Jeanne AMIEL (3), Mathilde NIZON (4), Renaud TOURAINE (5), Fabienne PRIEUR (5), Laurent PASQUIER (6), Mathilde LEFEBVRE (2), Julien THEVENON (2), Christèle DUBOURG (7), Sophie JULIA (8), Catherine SARRET (9), Ganaelle REMERAND (10), Christine FRANCANNET (11), Fanny LAFFARGUE (11), Odile BOESPFLUG-TANGUY (12), Albert DAVID (13), Bertrand ISIDOR (13), Jacqueline VIGNERON (14), Bruno LEHEUP (14), Laetitia LAMBERT (14), Christophe PHILIPPE (15), Mylène BERI-DEXHEIMER (15), Jean Marie CUISSET (16), Joris ANDRIEUX (17), Ghislaine PLESSIS (18), Annick TOUTAIN (19), Laurent GUIBAUD (20), Valérie CORMIER-DAIRE (21), Marlène RIO (3), Jean Paul BONNEFONT (22), Bernard ECHENNE (23), Hubert JOURNEL (24), Lydie BURGLEN (25), Sandrine CHANTOT-BASTARAUD (25), Thierry BIENVENU (26), Clarisse BAUMANN (27), Laurence PERRIN (27), Séverine DRUNAT (28), Pierre Simon JOUK (29), Klaus DIETERICH (29), Francoise DEVILLARD (29), Didier LACOMBE (30), Nicole PHILIP (31), Sabine SIGAUDY (31), Anne MONCLA (32), Chantal MISSIRIAN (33), Catherine BADENS (33), Nathalie PERRETON (34), Christel THAUVIN-ROBINET (2), Réseau d'Analyse Chromosomique sur Puces à ADN Réseau Achro-Puce (35), Jean Michel PEDESPAN (36), Caroline ROORYCK (30), Cyril GOIZET (30), Catherine VINCENT-DELORME (37), Bénédicte DUBAN-BEDU (38), Nadia BAHI-BUISSON (39), Alexandra AFENJAR (40), Kim MAINCENT (40), Delphine HERON (41), Jean Luc ALESSANDRI (42), Dominique MARTIN COIGNARD (43), Gaetan LESCA (44), Massimiliano ROSSI (45), Martine RAYNAUD (46), Patrick CALLIER (47), Anne Laure MOSCA-BOIDRON (47), Nathalie MARLE (48), Charles COUTTON (49), Véronique SATRE (49), Cédric LE CAIGNEC (50), Valérie MALAN (51), Serge ROMANA (51), Boris KEREN (52), Anne Claude TABET (53), Valérie KREMER (54), Sophie SCHEIDECKER (55), Adeline VIGOUROUX (56), Marilyn LACKMY-PORT-LIS (57), Damien SANLAVILLE (58), Marianne TILL (58), Maryline CARNEIRO (59), Brigitte GILBERT-DUSSARDIER (60), Marjolaine WILLEMS (61), Hilde VAN ESCH (62), Vincent DES PORTES (63), Salima EL CHEHADEH (64, 2)

1. laboratoires de diagnostique génétique, unité de cytogénétique constitutionnelle, CHU de Strasbourg, Strasbourg, France
2. FHU TRANSLAD, Centre de Référence Maladies Rares «Anomalies du développement et syndromes malformatifs», Centre de Génétique, CHU de Dijon, Dijon, France
3. Service de Génétique Clinique, Hôpital Necker Enfants Malades, APHP, Paris, France
4. Service de Génétique Clinique, Hôpital Necker Enfants Malades, APHP, Nantes, France
5. Service de Génétique Clinique, CHU de St Etienne, St Etienne, France
6. Service de Génétique Clinique, CLAD Ouest, CHU de Rennes, Rennes, France
7. Laboratoie de génétique moléculaire, CLAD Ouest, CHU de Rennes, Rennes, France
8. Service de Génétique Médicale, CHU de Toulouse, Toulouse, France
9. Service de Neuropédiatrie, CHU de Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, France
10. Service de Neuropédiatrie, CHU de Clermont-Ferrand, Clermont Ferrand, France
11. Service de Génétique Médicale, CHU de Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, France
12. Service de Neuropédiatrie et Maladies Métaboliques, Hôpital Robert Debré, Paris, France
13. Service de Génétique Médicale, CHU de Nantes, Nantes, France
14. Service de Génétique Médicale, CHU de Nancy, Nancy, France
15. Laboratoie de génétique médicale, CHU de Nancy, Nancy, France
16. Service de Neuropédiatrie, CHRU de Lille, Lille, France
17. Laboratoie de génétique médicale, Hôpital Jeanne de Flandre, CHRU de Lille, Lille, France
18. Service de génétique, CHU de Caen, Caen, France
19. Service de génétique, CHRU de Tours, Tours, France
20. service de Radiologie, Hôpital Femme Mère Enfant, Bron, Lyon, France
21. Service de Génétique Clinique, Hôpital Necker Enfants Malades, APHP, paris, France
22. Laboratoire de biologie moléculaire, Hôpital Necker Enfants Malades, APHP, Paris, France
23. Service de Neurologie pédiatrique, CHU de Montpellier, Montpellier, France
24. Service de génétique, Centre Hospitalier de Vannes, Vannes, France
25. Service de génétique, Hôpital Armand Trousseau, Paris, France
26. Laboratoire de génétique moléculaire, GH Cochin-Broca Hôtel Dieu, Paris, France
27. Service de Génétique Clinique, Hôpital Robert Debré, Paris, France
28. Laboratoire de biologie moléculaire, Hôpital Robert Debré, Paris, France
29. Département de Génétique et Procréation - UMR CNRS 5525 TIMC-IMAG - équipe DYCTIM, CHU de Grenoble, Grenoble, France
30. Service de Génétique Médicale, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France
31. Département de Génétique Médicale, Hôpital de la Timone, Marseille, France
32. Laboratoire de Génétique Chromosomique, Hôpital de la Timone, Marseille, France
33. Laboratoire de biologie moléculaire, Hôpital de la Timone, Marseille, France
34. CIC1407, Inserm, Bron, CHU de Lyon, Lyon, France
35. , CHU de Lyon, Lyon, France
36. Unité de Neuropédiatrie, CHU PELLEGRIN, Bordeaux, France

37. Clinique de Génétique Guy Fontaine, CHRU de Lille - Hôpital Jeanne de Flandre, Lille, France
38. Centre de Génétique Chromosomique, GH de l'Institut Catholique de Lille - Hôpital Saint Vincent de Paul, Lille, France
39. Unité de Neuropédiatrie, Hôpital Necker Enfants Malades, APHP, Paris, France
40. Centre de Référence Malformations et maladies congénitales du cervelet, Département de Génétique Médicale, Hôpital Armand Trousseau Paris, APHP, Paris, France
41. Service de Génétique Clinique, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France
42. Service de Pédiatrie, CHU Félix Guyon, Saint Denis de la Réunion, France
43. UF génétique médicale, Centre Hospitalier du Mans, Le Mans, France
44. Service de génétique, Hospices Civils de Lyon , Lyon, France
45. Service de génétique, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
46. Laboratoire de génétique moléculaire, CHRU de Tours, Tours, France
47. Laboratoire de Cytogénétique, CHU de Dijon, Dijon, France
48. Laboratoire de Cytogénétique, CHU de Dijon, Dijon, République tchèque
49. Laboratoire de Cytogénétique, CHU de Grenoble, Grenoble, France
50. Laboratoire de Cytogénétique, CHU de Nantes, Nantes, France
51. Laboratoire de Cytogénétique, Hôpital Necker Enfants Malades, APHP, Paris, France
52. Laboratoire de Cytogénétique, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France
53. Laboratoire de Cytogénétique, Hôpital Robert Debré, Paris, France
54. Laboratoire de Cytogénétique, Hôpital de Hautepierre, CHU de Strasbourg, Strasbourg, France
55. Laboratoire de Cytogénétique Moléculaire, NHC, CHU de Strasbourg, Strasbourg, France
56. Laboratoire de Cytogénétique, CHU de Toulouse, Toulouse, France
57. Service de Génétique Médicale, CHU de Pointe à Pitre, Guadeloupe, Pointe à Pitre, France
58. Laboratoire de Cytogénétique, CHU de Lyon, Lyon, France
59. Service de Neuropédiatrie, CHU de Lyon, Hôpital Femme-Mère-Enfant, Lyon, France
60. Service de Génétique Médicale, CHU de Poitiers, Poitiers, France
61. Service de Génétique Médicale, CHU de Montpellier, Montpellier, France
62. Laboratory for the Genetics of Cognition, Center for Human Genetics, University Hospitals Leuven, Louvain, Belgique
63. Centre de Référence Maladies Rares « Des déficiences intellectuelles de causes rares », CHU de Lyon, Hôpital Femme-Mère-Enfant, Lyon, France
64. Service de génétique médicale, Institut de génétique médicale d'Alsace (IGMA), Centre de Référence Maladies Rares «Anomalies du développement et syndromes malformatifs», Centre de Référence Maladies Rares « Des déficiences intellectuelles de causes rares », CHU de Strasbourg, Strasbourg, France

Mots clefs : lié à l'X, conseil génétique, syndrome de duplication MECP2 , gène MECP2, duplication Xq28, dysmorphie faciale

Résumé :

Le syndrome de duplication de la région Xq28 impliquant le gène *MECP2* (dupMECP2) a été essentiellement décrit chez des patients de sexe masculin souffrant d'une déficience intellectuelle (DI) sévère associée à une épilepsie, des mouvements stéréotypés et des infections récurrentes. Jusqu'à aujourd'hui peu de grandes séries ont été publiées sur le sujet. Le travail présenté résulte d'une étude collaborative nationale ayant permis de colliger les données biologiques d'une série française de 86 patients (garçons) porteurs d'un syndrome de dupMECP2 (duplications interstitielles) ainsi que les données cliniques de 59 d'entre eux, dans le but de mieux décrire l'histoire naturelle et le phénotype de cette affection rare, avec un focus sur les caractéristiques morphologiques et neurologiques. Nous avons constaté que les patients partageaient des éléments de dysmorphie faciale similaires et évoluant avec l'âge, incluant une hypoplasie médiofaciale, une arête nasale fine et proéminente, une bouche petite, ouverte à la lèvre inférieure épaisse, une persistance des dents lactéales, des oreilles larges et des cheveux épais. Nous décrivons également plusieurs signes morphologiques peu rapportés à ce jour, telles qu'un livedo des membres, des mains aux doigts effilés et des pieds petits avec de fréquents troubles vaso-moteurs. Un retard de développement était constant avec une marche non-acquise chez 21% des patients. Chez les patients ayant acquis la marche, la spasticité et l'hypotonie menaient à un habitus particulier avec flexion des genoux et du tronc et élargissement du polygone de sustentation conduisant à une démarche pseudo-ataxique qui, en association avec les troubles vasomoteurs, la constipation chronique (78%) et la diminution de la sensibilité à la douleur (78%), pourrait faire évoquer l'existence d'une anomalie de développement des voies nociceptives et proprioceptives chez ces patients. Une scoliose était fréquente (53%), tout comme un strabisme divergent (76%) et une hypermétropie (54%), des mouvements stéréotypés (89%), sans retrait social évident, et une épilepsie (59%), souvent pharmaco-résistante (62%), avec un âge moyen de début de 7,4 ans. Seuls 35% prononçaient quelques mots. D'autres problèmes médicaux étaient fréquents tels que des infections récurrentes (89%), principalement pulmonaires. Par ailleurs, une hypertension artérielle pulmonaire était présente chez plusieurs patients, responsable de décès précoces, nous faisant préconiser son dépistage dès les premiers mois de vie, puis régulièrement. Nous ne sommes pas parvenus à identifier de corrélation génotype-phénotype, notamment entre la taille des duplications et le degré de sévérité de la DI ou de l'épilepsie. Des recherches restent à approfondir dans ce sens afin de mieux comprendre la physiopathologie de cette affection sévère et d'aider à la mise en évidence de futures pistes thérapeutiques.

P113 : Encéphalopathie due au déficit en GM3 synthase (gène ST3GAL5) chez 8 nouveaux patients et description d'un effet fondateur à La Réunion

Auteurs :

Cyril Mignot (1), Michel Renouil (2)

1. APHP, Département de Génétique, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France
2. Service de Pédiatrie, CHU La Réunion, Saint-Pierre, France

Mots clefs : épilepsie, déficience intellectuelle, surdité, atrophie optique

Résumé :

Les mutations récessives du gène *ST3GAL5* sont responsables d'un déficit en GM3 synthase se manifestant par une encéphalopathie syndromique rare (MIM 609056) qui n'a été décrite que dans 4 pedigrees avec un effet fondateur pour la mutation homozygote c.694C > T, p.Arg288* dans la population Amish.
Nous rapportons 8 nouveaux patients issus de 5 familles différentes, porteurs d'une mutation homozygote ou de mutations hétérozygotes composites dans le gène *ST3GAL5*. Les mutations ont été identifiées par séquençage d'exome (n=2), panel de gènes d'encéphalopathie épileptique ou de déficience intellectuelle (n=4) ou recherche ciblée du variant réunionnais (n=2).
Le phénotype est globalement comparable à celui qui a été rapporté sous le nom d'« encéphalopathie des Amish » et de « salt-and-pepper syndrome ». Tous les patients (n=8/8), âgés de 3 à 7 ans, présentaient une déficience intellectuelle sévère à profonde (absence de tenue assise chez 6 patients et absence de langage chez 6) et 5/8 une microcéphalie. Des mouvements anormaux (dyskinésies, chorée) étaient décrits chez 5 patients et une épilepsie chez 5.
Parmi les signes extra-neurologiques : 1) l'atteinte cutanée d'apparition tardive était rapportée chez 2 patients âgés de 5 et 6 ans, 2) une atrophie optique était présente chez 3 patients, 3) une surdité endocochléaire était documentée chez 2 patients.
Au sein de cette cohorte, 6 individus issus de 4 familles originaires de La Réunion sont porteurs de la même mutation faux-sens (c.740G > A, p.Gly247Asp), dont 5 individus à l'état homozygote, et un individu à l'état hétérozygote composite (présence d'une seconde mutation c.1063G > A, p.Glu355Lys). Cette mutation récurrente est liée à un effet fondateur à La Réunion, confirmé par la généalogie qui a permis de faire le lien entre ces 4 familles.
La pathogénicité des mutations identifiées a été confirmée par dosage du GM3 plasmatique, parfois fibroblastique, qui a permis de mettre en évidence un effondrement du GM3 chez tous les patients.

P114 : Mutation du gène SMARCE1 et méningiomatose familiale avec expressivité variable

Auteurs :

Audrey Méleu (1), Cecile Zordan (1), Bernard George (2), Arnault Tauziède-Espariat (3), Joelle Cohen (4), Michel Vidaud (4, 5), Béatrice Parfait (4, 5), Cyril Goizet (1, 6)

1. Service de génétique Médicale, CHU Bordeaux, Bordeaux, France
2. Service de neurochirurgie, CHU Lariboisière, Paris, France
3. Service de Neuropathologie, CH Sainte-Anne, Paris, France
4. Service de Génétique et Biologie Moléculaires, Hôpital Cochin, Assistance Publique Hôpitaux de Paris, Paris, France
5. EA7331, Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, Faculté de Pharmacie de Paris, Paris, France
6. Laboratoire MRGM, INSERM U1211, Université Bordeaux, Bordeaux, France

Mots clefs : SMARCE1

Résumé :

Les mutations germinales hétérozygotes du gène *SMARCE1* ont récemment été impliquées dans les prédispositions familiales au développement des méningiomes. En effet, ce gène a été mis en évidence chez des patients présentant des méningiomes multiples à cellules claires cérébraux et spinaux, se développant principalement dans l'enfance et au début de l'âge adulte. L'analyse immunohistochimique de ces tumeurs a montré une perte d'expression de la protéine SMARCE1. Il existe une expressivité variable au niveau intra- et inter-familiale et la pénétrance est décrite incomplète avec, dans deux familles, un apparenté adulte porteur d'un variant pathogène du gène *SMARCE1* ne présentant pas de méningiome au moment de l'étude.
Nous décrivons ici une nouvelle famille dans laquelle l'expressivité est très variable. En effet, le cas index, dont l'histoire familiale n'est pas informative, a présenté de nombreux méningiomes nécessitant 15 opérations chirurgicales avant l'âge de 30 ans. L'analyse moléculaire du gène *SMARCE1* réalisée à partir d'un prélèvement de sang périphérique a permis d'identifier une mutation tronquante germinale à l'état hétérozygote (c.197del, p.(pro66Glnfs*5)). Cette mutation a été retrouvée dans l'ADN tumoral extrait de deux méningiomes opérés, lombaire et intracrânien, respectivement associée soit à une perte d'hétérozygotie par isodisomie soit à une deuxième mutation tronquante en trans. L'analyse parentale a montré que cette mutation était héritée de sa mère, cliniquement asymptomatique à l'âge de 56 ans. Cette observation montre une nouvelle fois la grande variabilité d'expression clinique au sein d'une même famille dans laquelle ségrége une mutation du gène *SMARCE1* et soulève la question de l'indication du diagnostic prénatal dans la ménigiomatose familiale liée au gène.

P115 : Identification par exome de 3 mutations ponctuelles du gène TBL1XR1 chez des patients atteints d'une déficience intellectuelle ou d'un trouble des apprentissages

Auteurs :

damien HAYE (1), Boris KEREN (1), Caroline NAVA (1), Alexandra AFENJAR (2), Isabelle MAREY (1), Perrine CHARLES (1), Aurélia JACQUETTE (1), Diane DOUMMAR (3), Cyril MIGNOT (1)

1. Département de Génétique, GH Pitié Salpêtrière, Paris, France
2. Service de Génétique, Hôpital Trousseau, Paris, France
3. Service de Neuropédiatrie, Hôpital Trousseau, Paris, France

Mots clefs : TBL1XR1, Syndrome de Pierpont, Déficience intellectuelle

Résumé :

Le syndrome de Pierpont est un syndrome rare associant une dysmorphie caractéristique, une surdité, une petite taille et un retard de développement avec déficience intellectuelle. A ce jour, seule la mutation hétérozygote c.1337A > C (p.Tyr446Cys) du gène TBL1XR1 responsable de ce syndrome a été rapportée. D'autres mutations de ce gène ont cependant été décrites à partir de patients atteints d'une déficience intellectuelle non syndromique ou d'un trouble du spectre autistique. Nous rapportons ici le suivi de 3 patients porteurs d'une mutation de novo du gène *TBL1XR1*.
Le patient 1a un retard pyschomoteur, un trouble d'apprentissage scolaire, une légère dysmorphie et un syndrome de Gilles de la Tourette. La mutation de novo c.1331C > T (p.Pro444Leu) est située proche de la mutation spécifique du syndrome de pierpont, cependant le patient 1 n'a pas la dysmorphie caractéristique de ce syndrome. Par ailleurs, tous les patients atteints d'un syndrome de Pierpont ont une déficience intellectuelle. L'évaluation neuropsychologique (WISCIV) du patient 1a montré une intelligence normale.
Le patient 2 a un retard psychomoteur, une déficience intellectuelle, une épilepsie, un trouble obsessionnel et compulsif, une petite taille et une légère dysmorphie avec brachymétatarsie. Il a été mis en évidence la mutation de novo c.734A > G (p.Tyr245Cys) à l'état hétérozygote dèjà décrite par Armour et ses collaborateurs chez un patient atteint d'un phénotype semblable : spasticité progressive, petite taille, syndrome de Gilles de la Tourette, brachymétatarsie et retard mental modéré.
Le patient 3 a une légère dysmorphie, un retard psychomoteur avec une déficience intellectuelle légère. La mutation de novo c.205-15A > G mise en évidence chez ce patient est située proche d'un site d'épissage. Une RT-PCR est cependant nécessaire pour confirmer un saut d'exon.
La comparaison des données cliniques de ces 3 patients aux observations de la littérature contribue à élargir le spectre phénotypique de patients porteurs d'une mutation du gène *TBL1XR1.*

P116 : Diagnostic de tubulinopathie chez 5 nouveaux patients déficients intellectuels avec IRM cérébrale non spécifique

Auteurs :

solveig HEIDE (1), Cyril MIGNOT (1), Audrey PUTOUX (2), Gaetan LESCA (3), Christel THAUVIN (4), Sébastien MOUTTON (4), Laurence FAIVRE (4), Perrine CHARLES (1), Isabelle MAREY (1), Agnès RASTETTER (5), Christel DEPIENNE (6), Tania ATTIE-BITACH (7), Lucile BOUTAUD (7), Boris KEREN (8), Caroline NAVA (8), Delphine HERON (1)

1. UF de Génétique Médicale, GH Pitié-Salpêtrière, PARIS, France
2. Service de Génétique, Hospices Civils de Lyon, Groupement Hospitalier Est, Lyon, France
3. Service de Génétique Moléculaire et Médical, Hospices Civils de Lyon, Groupement Hospitalier Est, Lyon, France
4. Centre de génétique, Hôpital d'enfants CHU Dijon Bourgogne - Hôpital François Mitterrand, Dijon, France
5. Inserm U 1127 et CNRS UMR 7225 , Institut du Cerveau et de la Moelle, PARIS, France
6. Institüt für Humangenetik, Universitätsklinikum Essen , PARIS, Allemagne
7. Laboratoire de Génétique Moléculaire, Hôpital Necker Enfants Malades, PARIS, France
8. UF de Génomique du Développement, GH Pitié-Salpêtrière, PARIS, France

Mots clefs : tubuline, exome, déficience intellectuelle

Résumé :

Les mutations dans les gènes de tubulines (*TUBA1A*, *TUBB2A*, *TUBB2B*, *TUBB3*, *TUBB5* et *TUBG1*) sont responsables d'un large spectre de malformations corticales regroupées sous le terme de tubulinopathies incluant lissencéphalie, pachygyrie et polymicrogyrie. Les caractéristiques cliniques de ces patients incluent déficience intellectuelle (DI), épilepsie et microcéphalie. Le diagnostic de tubulinopahtie est évoqué en premier lieu sur l'IRM cérébrale devant des anomalies de la gyration corticale souvent associées à d'autres anomalies (agénésie du corps calleux [ACC] ou corps calleux dysplasique [CCdys], hypoplasie ou dysplasie cérébelleuse, anomalies du faisceau pyramidal).
Nous rapportons 5 patients avec DI porteurs d'une mutation pathogène dans un gène de tubuline (*TUBA1A* [n=2], *TUBB2A* [n=1], *TUBB3* [n=2]). et une IRM cérébrale n'évoquant pas une tubulinopathie. Un patient avait une IRM cérébrale normale et 3 une IRM montrant des anomalies non spécifiques (de la substance blanche [n=1], ACC complète isolée [n=1), CCdys [n=1], atrophie cérébelleuse [n=1]). Les mutations ont été identifiées par séquençage d'exome (n=2), panel de gènes d'ACC (n=1) ou de déficience intellectuelle (n=1).
La patiente avec une nouvelle mutation *de novo* dans *TUBB2A* (c.533C > T, p.Thr178Met) avait les hypersignaux isolés et aspécifiques de la substance blanche et une DI modérée, une microcéphalie, une épilepsie. Seuls 3 patients porteurs d'une mutation dans *TUBB2A* ont été rapportés à ce jour (Cushion 2014, Rodan 2016), dont un avec un CCdys isolé.
Les deux patients avec une mutation *de novo* dans *TUBA1A* avaient : 1) un CCdys sans autre malformation cérébrale ou extra-cérébrale, associée à une DI légère, 2) une IRM normale, un retard psychomoteur et une microcéphalie. Les mutations identifiées sont : c.862G > A, p.Val288Ile chez le premier patient et c.962G > A, p.Gly321Asp chez le second. Les mutations de *TUBA1A* sont fréquentes dans de larges cohortes de patients avec malformation corticale (Bahi Buisson 2014). Seuls 11 patients ont été rapportés sans malformation corticale, tous avec hypoplasie ou dysplasie cérébrelleuse (Kumar 2010, De Ligt 2012, Oegema 2015).
Les 2 patients avec mutation *de novo* dans le gène *TUBB3* étaient porteurs de la même mutation (c.785G > A; p.Arg262His) et présentaient un phénotype similaire incluant DI, paralysie faciale, neuropathie périphérique. Un montrant une atrophie cérébelleuse, tandis que l'autre présentait une ACC. Les mutations du gène *TUBB3* sont responsables d'un large spectre phénotypique neurologique et extra-neurologique mais les malformations corticales ne sont pas constantes chez les patients rapportés (Tischfield 2010).
Ainsi, nous confirmons l'importance de considérer les variants dans les gènes de tubulines comme potentiellement pathogènes chez des patients avec DI et IRM cérébrales non spécifiques, y compris en l'absence de malformation corticale et nous confirmons le large spectre clinique et radiologique associé aux tubulinopathies.

P117 : A propos de 3 cas de déficience intellectuelle liés au gène DYNC1H1

Auteurs :

Audrey Schalk (1), Baer Sarah (2, 3), Amélie Piton (3, 4), Céline Cuny (1), Claire Feger (1), Elsa Nourrisson (1), Saméa Samimi (1), Jean Muller (1), Christine Francannet (5), Andrée Delahaye-Duriez (6), Jamel Chelly (1, 4), Bénédicte Gérard (3)

1. Laboratoire de Diagnostic Génétique, Hopitaux universitaires de Strasbourg, strasbourg, France
2. Service de Génétique Médicale, Institut Génétique Médical d'Alsace, Hopitaux universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
3. Laboratoire de Diagnostic Génétique, Hopitaux universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
4. Insitut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire, CNRS U7104, INSERM U964, Université de Strasbourg, Illkirch, France
5. Service de Génétique Médicale, CHU de Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, France
6. Laboratoire de Cytogénétique, Hôpital Jean Verdier, Bondy, France

Résumé :

La déficience intellectuelle (DI) est un groupe hétérogène de maladies sur le plan clinique et moléculaire regroupant des pathologies syndromiques ou non. A ce jour plus de 500 gènes ont été identifiés comme étant responsables d'une DI d'origine génétique. Le gène *DYNC1H1* (OMIM #600112), code pour une sous-unité essentielle du complexe moteur Dynéine, et a été rapporté dans les amyotrophies spinales avec prédominance aux membres inférieurs (SMA-LED), les neuropathies sensorielles et motrices (Charcot-Marie Tooth), et des anomalies de migration neuronale. Nous rapportons ici l'observation de 3 cas atteints de DI, sans malformation corticale rapportée, avec identification d'une variation de classe 4 dans le gène *DYNC1H1* : dans 2 cas, la mutation est héritée d'un parent et dans un cas, il s'agit d'une mutation de novo.

L'analyse des propositus adressée au laboratoire pour recherche d'une cause moléculaire pour une DI sans orientation clinique particulière, a été réalisée par séquençage haut débit sur un panel ciblé de gènes impliqués dans la déficience intellectuelle mise en place à Strasbourg (450 gènes).

La première famille présente un faux-sens dans le gène *DYNC1H1* (NM_001376) c.11309T > C, p.Leu3770Pro situé dans le domaine moteur AAA5. Le propositus, âgé de 9 ans présentait une DI légère avec retard de langage associé à une épilepsie. Il présente des troubles de l'attention et du sommeil avec des terreurs nocturnes. Aucune anomalie n'a été rapportée sur son scanner cérébral. Cette mutation est présente à l'état hétérozygote chez son père, qui présente également une DI légère. Cette mutation n'est pas présente chez ses grands-parents paternels.
La deuxième famille présente un faux-sens dans *DYNC1H1* (NM_001376) c.6995G > A, p.Arg2332His situé dans le domaine moteur AAA2. Le propositus âgé de 18 ans présentait une DI modérée associée à une épilepsie, l'EEG montre des pointes ondes bifrontales. Aucune anomalie n'a été rapportée à l'examen de l'IRM cérébrale. La mutation est héritée de sa mère et elle est présente à l'état mosaïque chez elle (10 %).
La troisième famille présente un faux-sens *de novo* c.2900A > G, p.Gln967Arg. Cette mutation, localisée dans le domaine STEM, a été retrouvée chez un garçon de 25 ans, présentant une DI moyenne, des troubles de l'attention, une épilepsie, une atrophie musculaire modérée au niveau des quadriceps et des jambiers, une neuropathie périphérique avec des mains et pieds creux. L'IRM est, elle, normale.

En conclusion nous rapportons trois cas de variants délétères dans le gène *DYNC1H1* chez des patients présentant une DI sans anomalie du développement cortical rapporté associé à une épilepsie (réévaluation clinique en cours). Le gène *DYNC1H1* semble être une cause probable de DI familiale : sur cette hypothèse, une réanalyse de 9 variants de classe 3, hérités d'un parent a priori asymptomatique, est en cours dans notre laboratoire.

P118 : Caractérisation des conséquences fonctionnelles de trois mutations de perte de fonction affectant les isoformes longues et courtes de AUTS2

Auteurs :

Francesca Mattioli (1), Elise Schaefer (2), Bertrand Isidor (3), Albert David (4), Mathilde Nizon (4), Sandra Mercier (5), Alexandra Afenjar (6), Caroline Nava (6), Boris Keren (6), Estelle Colin (7), Bonneau Dominique (7), Christiane Zweier (8), André Reis (8), Gilbert-Dussardier Brigitte (9), Romain Coutelle (10), Bérénice Doray (11), Bénédicte Gerard (12), Jean-Louis Mandel (1), Amelie Piton (13, 12)

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. Service de génétique médicale, CHu de Nantes, Nantes, France
5. Service de génétique médicale, CHU de Nantes, Nantes, France
6. Centre de Génétique Moléculaire et Chromosomique , Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France
7. Département Biochimie et génétique, CHU d'Angers, Angers, France
8. Humangenetisches Institut, Universitätsklinikum Erlangen, Erlangen, Allemagne
9. Service de génétique médicale, CHU de Poitiers, Poitiers, France
10. , Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
11. Service de génétique médicale, Institut de Génétique Médicale d'Alsace, Strasbourg, France
12. Laboratoire de diagnostic génétique, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
13. Department of Translational Medicine and Neurogenetics, IGBMC, Illkirch , Illkirch, France

Mots clefs : AUTS2, intellectual disability

Résumé :

Intellectual disability (ID) is a common neurodevelopmental disorder, characterized by a high genetic heterogeneity, with more than 700 genes described to be associated with Mendelian forms of ID, among which the “AUTS2 syndrome”. Despite his name, the *Autism Susceptibility candidate 2* (*AUTS2*) gene does not strictly correlate with autism and patients with a variable global developmental delay and ID, with or without autism and microcephaly have been reported with genomic rearrangements, intra- and inter-genic deletions. Recently, it has been discovered a shorter isoform of *AUTS2* located in the highly conserved 3’region, which is expressed in the human brain and it is mainly localized in the nucleus. The location of the deletion/point mutation tends to have different effect if they affect the long isoforms only or both isoforms. However, the short isoform is not well characterized in term of transcription and translation initiation sites. It is therefore difficult to predict the potential effect of deletions/point mutations occurring in this gene. By performing RNA sequencing in human fibroblasts and neural precursors, we intended to better characterize the short AUTS2 isoform, identifying at least two novel exons. By using a targeted and whole exome sequencing strategies we have identified five loss-of-functions (LoF) variants and collected additional cases by collaboration with our molecular and clinical geneticist colleagues. Our data enlarged the characterization of ID associated to a disruption of *AUTS2* by adding a total of 12 new patients, showing that mutations in *AUTS2* are a relatively frequent cause of ID (3/314 in TS and 1/36 in WES) and that the phenotype can vary even in the same family. We carried out functional studies on available patient’s fibroblasts to investigate the consequences of these mutations and showed that short and long transcripts carrying the mutations at least partially escape to NMD. Moreover, we performed RNA-sequencing to identify genes differentially expressed (DE) in patients carrying a LoF in AUTS2 vs control individuals. Around 500 DE genes were identified, with a significant enrichment of related terms such as cell cycle, mitosis, cell division, kinetochore among the down-regulated genes. We particularly observed an important reduction of the RNAs encoding centromere proteins, among which *WDR62, ASM* and *STIL* that are known to be essential for the centrosome assembly and have been reported in patients with primary microcephaly. In addition, there is also a significant decrease of transcripts encoding proteins associated with microtubules, such as kinesin and other proteins involved in the microtubules-kinetochore attachment.
Overall, our data enlarge the knowledge about the clinical symptoms associated to mutation in *AUTS2* and suggest an important role of AUTS2 in the expression regulation of genes involved in centrosome and microtubule assembly.

P119 : Identification du gène PACS2 responsable d'épilepsie infantile précoce et de déficience intellectuelle à partir d'une cohorte internationale de 13 patients porteurs d'une mutation faux-sens récurrente de novo

Auteurs :

Nolwenn Jean-Marçais (1, 2), Heather Olson (3), Delphine Heron (4, 5), Kate Tatton-Brown (6), P.A. van der Zwaag (7), E.K. Bijlsma (8), Bryan L Krock (9), E. Backer (10), E.J. Kamsteeg (11), M. Sinnema (11), M. Reinders (11), D. Bearden (12), Megan Cho (13), Lacey Smith (14), Beth Sheidley (15), C. Skraban (9, 16), A. Nesbitt (9, 16), DE Fransen van de Putte (8), C.A. Ruivenkamp (17), P. Rump (18), R.J. Lunsing (19), Lydie Burglen (20), Gaetan Lesca (21, 22), Isabelle Sabatier (23), J. De Bellescize (24), David Sweetser (25, 26), Klaas J. Wierenga (27), DDD Study Deciphering Developmental Disorders Study (28), Jean Donadieu (29), Research Group C4RCD (30), Antonio Vitobello (31, 32), Frédéric Tran Mau-Them (31, 33), Christophe Philippe (31, 33), Jean-Baptiste Rivière (31, 33), AL. Bruel (31, 33), Yannis Duffourd (31, 33), L. Thomas (34), S. Lelieveld (11), H. Brunner (11), Boris Keren (35, 36), Julien Thevenon (37, 38), Laurence Faivre (37, 39), Gary Thomas (34), Christel Thauvin (37, 40)

1. Centre de Génétique Médicale, CHU DIJON, DIJON, France
2. Fédération Hospitalo-Universitaire Médecine Translationnelle et Anomalies du Développement (TRANSLAD), CHU DIJON, DIJON, France
3. Epilepsy Genetics Program, Division of Epilepsy and Clinical Neurophysiology,Department of Neurology, Boston Children's Hospital, Harvard Medical School, BOSTON, Etats-Unis
4. Département de Génétique-Centre de Référence , AP-HP, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, 75013 Paris, France
5. Groupe de Recherche Clinique (GRC) , UMPC, 75013 Paris, France
6. South West Thames Regional Genetics Service University, NHS Foundation Trust, London, UK, London, Royaume Uni
7. Department of Genetics, University of Groningen, University Medical Center Groningen, Groningen, Pays-Bas
8. Department of Clinical Genetics, Leiden University Medical Center , Utrecht, Pays-Bas
9. Department of Pathology and Laboratory Medicine, Division of Genomic Diagnostics, The Children's Hospital of Philadelphia, Philadelphia, Pennsylvania 19104, Etats-Unis
10. Genomic Diagnostics Laboratory, Manchester Centre for Genomic Medicine, Central Manchester University Hospitals, NHS Foundation Trust, Saint Mary's Hospital, Manchester, UK, Manchester, Royaume Uni
11. Department of Human Genetics, Radboud University Medical Center, Nijmegen, Pays-Bas
12. Division of Neurology, The Children's Hospital of Philadelphia, Philadelphia, Etats-Unis
13. Research Program Manager, Whole Exome Sequencing BioReference / GeneDx, www.genedx.com, Gaithersburg, Etats-Unis
14. Epilepsy Genetics Program, Division of Epilepsy and Clinical Neurophysiology, Department of Neurology, Boston Children's Hospital, Harvard Medical School, Boston, Massachusetts, Etats-Unis
15. Epilepsy Genetics Program, Division of Epilepsy and Clinical Neurophysiology, Department of Neurology, Boston Children's Hospital, Harvard Medical School, Boston,Massachusetts, Etats-Unis
16. Department of Pathology and Laboratory Medicine, Perelman School of Medicine, University of Pennsylvania, Philadelphia, Pennsylvania 19104, Etats-Unis
17. Department of Clinical Genetics, Leiden University Medical Center Utrecht, Utrecht, Pays-Bas
18. South West Thames Regional Genetics Service University, St George's university, NHS Foundation Trust, Londres, Royaume Uni
19. Department of Child Neurology, University of Groningen, University Medical Center Groningen, Groningen, Pays-Bas
20. Service de neuropédiatrie, Hôpital Trousseau, APHP, Paris, France
21. Department of Medical Genetics, Lyon University Hospital, Lyon, France
22. CNRS UMR 5292, INSERM U1028, CNRL, Lyon, France
23. Department of Pediatric Neurology, Lyon University Hospital, Lyon, France
24. Department of clinical epileptology, sleep and functional neurology in children, Lyon University Hospital, Lyon, France
25. Center for Genomic Medicine, Massachusetts General Hospital, Boston,Massachusetts, Etats-Unis
26. Divisions of Pediatric Hematology/Oncology and Medical Genetics, Department of Pediatrics, Massachusetts General Hospital, Boston, Massachusetts, Etats-Unis
27. Department of Pediatrics-Section of Genetics, University of Oklahoma Health Science Center, Oklahoma, Etats-Unis
28. Wellcome Trust Sanger Institute, Wellcome Trust Genome Campus, Cambridge, Royaume Uni
29. Service d'hémato-oncologie pédiatrique, Hôpital Trousseau, APHP, Paris, France
30. , The Translational Genomics Research Institute, Phoenix, Arizona, Etats-Unis
31. Fédération Hospitalo-Universitaire Médecine Translationnelle et Anomalies du Développement (TRANSLAD), CHU de Dijon, Dijon, France
32. Inserm UMR1231 GAD, Génétique des Anomalies du Développement, , Université de Bourgogne, Dijon, France
33. Inserm UMR1231 GAD, Génétique des Anomalies du Développement, Université de Bourgogne, Dijon, France
34. Department of Microbiology and Molecular Genetics and University of Pittsburgh Cancer Institute, University of Pittsburgh School of Medicine, Pittsburgh, Etats-Unis
35. Département de Génétique, AP-HP, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Paris, France
36. Inserm, CNRS, UM 75, U 1127, UMR 7225, ICM, UMPC, Paris, France

37. Centre de Génétique Médicale, CHU de Dijon, Dijon, France
38. Fédération Hospitalo-Universitaire Médecine Translationnelle et Anomalies du Développement (TRANSLAD);Inserm UMR1231 GAD, CHU DIJON;Université de Bourgogne, Dijon, France
39. Fédération Hospitalo-Universitaire Médecine Translationnelle et Anomalies du Développement (TRANSLAD);25. Inserm UMR1231 GAD, CHU de Dijon;Université de Bourgogne, Dijon, France
40. Fédération Hospitalo-Universitaire Médecine Translationnelle et Anomalies du Développement, Inserm UMR1231 GAD, CHU de Dijon; Université de Bourgogne, Dijon, France

Mots clefs : PACS2, déficience intellectuelle, épilepsie infantile précoce, mutation récurrente

Résumé :

L'épilepsie touche approximativement 7 enfants sur 10 000 avant l'âge de 2 ans et s'associe fréquemment à des troubles neurodéveloppementaux. Elle peut alors être secondaire à une lésion cérébrale acquise, une malformation cérébrale congénitale ou une cause génétique telle que des maladies métaboliques, des anomalies chromosomiques ou des mutations géniques. Un grand nombre de gènes responsables d'épilepsie ont déjà été identifiés, codant pour des canaux ioniques ou des protéines impliquées dans diverses voies cellulaires comme le remodelage de la chromatine, la régulation de la transcription et la régulation de mTOR. L'identification de nouveaux gènes est un enjeu crucial pour la confirmation diagnostique, le conseil génétique et parfois l'adaptation thérapeutique.
Nous avons initialement identifié par séquençage haut débit d'exome la même variation faux-sens (p.Glu209Lys) *de novo* du gène *PACS2* chez 2 patients atteints d'épilepsie néonatale et de déficience intellectuelle (DI) modérée. Une collaboration nationale et un partage de données international a permis de collecter 11 autres patients porteurs de la même variation *de novo*. Les 13 patients, âgés de 16 mois à 16 ans, présentaient tous une épilepsie infantile débutant dès les 1ers jours ou les 1ères semaines de vie et un retard global de développement ou une DI. L'épilepsie était focale chez 5/12 patients ou généralisée d'emblée ou secondairement chez 7/12 patients. Les patients présentaient également des troubles du spectre autistiques ou des troubles du comportement (7/13 patients) et une dysplasie cérébelleuse (5/13 patients).
Le gène *PACS2* code pour une protéine qui participe aux échanges entre le réticulum endoplasmique (RE) et la mitochondrie. PACS2 joue un rôle d'effecteur proapoptotique menant à la perméabilisation de la membrane mitochondriale et à l'activation des caspases mais est également un régulateur de l'axe SIRT1-p53-p21. Son invalidation aboutit ainsi à une dissociation du RE et une fragmentation des mitochondries ainsi qu'une perturbation de l'apoptose médiée par tBid. Les études préliminaires fonctionnelles démontrent que les protéines chaperonnes incluant les histones déacétylases SIRT1 and HDAC1 ainsi que les canaux ioniques TrpV1 interagissent préférentiellement avec la protéine PACS2 Glu209Lys plutôt qu'avec la protéine de type sauvage.
Par ailleurs, *PACS2* présente une homologie de 54% avec le gène *PACS1* préalablement rapporté chez des patients atteints de DI, de particularités morphologiques faciales et/ou d'épilepsie.
En conclusion, l'ensemble de ces résultats permettent de confirmer l'implication du gène *PACS2* dans une forme d'épilepsie infantile précoce évoluant vers un retard global de développement et/ou une DI.

P120 : Syndrome d'Hypomyeliniasation avec cataracte congénitale à propos d'un cas

Auteurs :

Saadia Lougani (1), Lamine Moussa (1), Farida Ferrat (1), Amina Benhadaddi (1), Hassina Hadjou (1), Abdelkrim Saadi (1), Siham Hellal (2), Elisabetta Gazerro (3), wahiba Amer el khedoud (1), myriem Abada-Bendib (1)

1. Service de Neurologie, EHS Benaknoun , Alger, Algérie
2. Laboratoire centrale de biochimie, CHU Mustapha, Alger, Algérie
3. Laboratoire de pathologie musculaire, Institut G.Gaslani, Genova, Italie

Mots clefs : hypomyelinisation ,cataracte congenitale ,neuropathie peripherique ,géne FM126A

Résumé :

INTRODUCTION:Le Syndrome d'hypomyelinisation -cataracte congénitale est une maladie trés rare,de transmission autosomale recessive ,liée à un déficit en Hyccine qui est une proteine membranaire codée par le géne FM126A ,sur le chromosome 7p21.3-p15.3(OMIM*610531).Il se manifeste par une cataracte congénitale ,un développement psychomoteur normal la premiére année de vie,des manifestations neurologiques telles que une ataxie ,une spasticité ,un retard mental moderé et une neuropathie péripherique associés à une hypomyelinisation diffuse du systeme nerveux centrale.
OBSERVATION:Enfant Algerien ,agé de 3 ans ,issu d'un mariage consanguin qui présente une catracte congénitale bilatérale ,un retard du développement psychomoteur ,une tétraparesie spastique et une macrocranie ,une hypomyelinisation diffuse de la substance blanche sus tentorielle à l'IRM cérébrale ,et une neuropathie péripherique à l'ENMG .L'analyse génétique a objectivé une mutation homozygote c.414+1 G > T de l,exon 5 du géne FM126A.Cette mutation a été déjà rapportée chez le premier patient scicilien.
DISCUSSION:La présence de la triade :cataracte congénitale ,neuropathie péripherique ,et hypomyelinisation de la substance blanche centrale a permis d'évoquer le diagnostique .Cette association nous a inciter à réaliser l'étude génétique du géne FM126A .
La présence d'une macrocranie (+ 4DS) chez notre patient n'a pas été rapporté dans la litteratue ce qui peut nous amener à considérer la macrocranie comme un nouveau symptome dans ce syndrome trés rare .
Conclusion:Le syndrome d'Hypomyelinisation-cataracte congénitale est une maladie trés rare .sa particularité clinique et radiologique permet d'évoquer le diagnostique et d'orienter l'analyse génétique .

P121 : Etude génétique d'une cohorte française de patients atteints de Sclérose Latérale Amyotrophique Sporadique

Auteurs :

Sylviane Marouillat (1), Céline Brulard (1), Catherine Antar (1), Rose-Anne Thépault (1), Cindy Maurel (1), Hélène Blasco (1, 2), Stéphane Beltran (1, 3), Philippe Couratier (4), Christian Andres (1, 2), Philippe Corcia (1, 3), Patrick Vourc'h (1, 2)

1. INSERM U930 , Université de Tours, Tours, France
2. Service de Biochimie et Biologie moléculaire, CHRU Tours, Tours, France
3. Service de Neurologie, Centre SLA, CHRU Tours, Tours, France
4. Service de Neurologie, Centre SLA, CHU de Limoges, Limoges, France

Mots clefs : sla, dft, c9orf72, NGS

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 (SLAF), et l'étude de ces familles a conduit à l'implication de plus d'une trentaine de gènes. La part génétique dans l'étiologie des formes sporadiques de SLA (SLAS) reste à préciser.
OBJECTIFS. Notre objectif était d'étudier 31 gènes identifiés dans la SLAF dans une population de 650 patients français atteints de SLAS. Les diagnostics ont été réalisés dans de plusieurs Centres SLA membres du réseau FILSLAN (Filière de Santé Maladies Rares Sclérose Latérale Amyotrophique et Maladies du motoneurone).
METHODES. L'Expansion de répétitions d'hexanucléotides (HRE) dans le gène C9ORF72 a été étudiée par PCR-repeat/Genescan. Les 30 autres gènes de la SLA ont été analysés par séquençage Sanger (3130xl Applied) et Séquençage haut débit (NGS, MiSeq Illumina). Une approche par capture a été utilisée pour le NGS. Les librairies générées, par capture des exons et régions de jonction exon-intron (panel à façon Haloplex, Agilent), ont été qualifiées et quantifiées, séquencées sur MiSeq et analysées par un pipeline informatique développées à Tours (INSERM U930-Centre SLA du CHRU de Tours).
RESULTATS. La cohorte de patients SLAS était constituée à 56% d'hommes et 44% de femmes. L'âge moyen d'apparition des premiers symptômes était de 59 ans. L'étude génétique de cette cohorte a mis en évidence la présence d'une 15aine de mutations hétérozygotes dans plusieurs gènes. Le gène C9ORF72 était muté chez 4,5% des patients ; 20 % d'entre eux rapportaient la présence de troubles comportementaux (démence fronto-temporale, Alzheimer) dans leurs familles. Les gènes SOD1 (1,2%), TARDBP (0,8%) et FUS (0,5%) étaient les autres gènes les plus fréquemment mutés. Plusieurs variations de séquence de fréquences alléliques inférieure à 1% (bases 1000 genomes et ExAC) ont aussi été observées. Leur pathogénicité est en cours d'analyse. De nouvelles mutations non décrites à ce jour ont été identifiée, comme par exemple la mutation p.Y526C du gène FUS chez une femme de 25 ans. Cette mutation dans le dernier codon de la séquence codante était associée à une SLA à début bulbaire et à évolution rapide (Corcia et al., 2017). Nous avons par ailleurs observé chez des patients plusieurs variations de séquence, certains suggérant un mécanisme bi-génique.
DISCUSSION-CONCLUSION. Les diagnostics moléculaires de la SLA portent majoritairement sur l'étude des cas familiaux. Nous nous sommes intéressés aux formes sporadiques de la maladie. Les informations rapportées ici (fréquences de mutations, etc) dans la SLAS sont importantes dans le cadre des réflexions au sein de la filière de soin FILSLAN. Nous avons par ailleurs décrit de nouvelles mutations, certaines intéressantes pour des études structure-fonction, et avons montré l'intérêt croissant du NGS dans le diagnostic moléculaire de la SLA.

P122 : Hétérogénéité clinique et génétique chez des patients tunisiens atteints de cockayne syndrome: à propos de 7 cas

Auteurs :

Asma Chikhaoui (1), Ichraf Krawa (2), Sami Bouchoucha (3), Nadège Calmels (4), Sonia Abdelhak (5), Ilhem Turki (2), Houda Yacoub-Youssef (6)

1. Laboratoire de Génomique Biomédicale et Oncogénétique, Institut Pasteur de Tunis, Tunis , Tunisie
2. Service de Neuropédiatrie, Institut de Neurologie Mongi Ben Hmida, Tunis, Tunisie
3. Service d'orthopédie pédiatrique, Hopital Béchir Hamza, Tunis, Tunisie
4. Laboratoire de diagnostic génétique, CHU Strasbourg, Strasbourg, France
5. Laboratoire de Génomique Biomédicale et Oncogénétiquee et Oncogénétique, Institut Pasteur de Tunis, Tunis, Tunisie
6. Laboratoire de Génomique Biomédicale et Oncogénétique, Institut Pasteur de Tunis, Tunis, Tunisie

Mots clefs : maladies neurodégénératives, neurogénétique, vieillissement accéléré, séquençage ciblé, système de réparation de l'ADN

Résumé :

Le syndrome de Cockayne (CS) est une maladie rare, autosomique récessive, caractérisée par un vieillissement prématuré. Le patient CS présente une microcéphalie, un retard de croissance, des atteintes neurologiques et musculaires et une hypersensibilité aux UVs. L'espérance de vie des patients CS est estimée à 12 ans. Depuis sa découverte, le CS est classé comme maladie de réparation de l'ADN étant donné que les mutations identifiées, sont dans les gènes CSA (ERCC8) et CSB (ERCC6) du système NER. Cependant, des mutations dans ces gènes ont été identifiées aussi chez des patients atteints du UVSS (UV-sensitive syndrome). Il s'agit d'une maladie de réparation de l'ADN qui ne prédispose à aucune atteinte neuro-dégénérative. En Tunisie, le CS est sous-diagnostiqué, vu l'absence de centre de référence pour le diagnostic de la maladie.
Dans ce travail, nous avons fait une investigation clinique et génétique pour des patients atypiques chez qui on suspecte la maladie de CS.
Une collecte de données cliniques et de matériel biologique a été faite après l'obtention d'un consentement éclairé chez 7 patients issus de 5 familles tunisiennes. L'investigation génétique a été faite en collaboration avec le laboratoire de diagnostic génétique du CHU de Strasbourg.
Cette étude décrit 7 cas issus de 5 familles différentes. Il s'agit de la plus grande cohorte décrivant une hétérogénéité clinique qui s'est confirmé par l'analyse génétique. En effet, chez 5 patients ayant le même tableau clinique, une mutation dans le gène ERCC8 de l'exon7 c.598_600 delins AA (p. Tyr200LysfsX12) a été trouvée. Cette mutation engendre un décalage du cadre de lecture conduisant à l'émergence d'un codon stop. Cette mutation a été précédemment rapportée chez quelques patients Tunisiens et Libyens par l'équipe de Vincent Laugel. Par ailleurs, l'un de ces patients provient d'un mariage non consanguin avec des ancêtres parentaux d'origine algérienne ce qui confirme que cette mutation est spécifique à la population Nord Africaine avec un effet fondateur. Quant aux patients ne présentant pas la mutation récurrente (une fratrie), ils présentaient des signes cliniques plus sévères que les autres CS, mais sans photosensibilité aux UVs. Un séquençage ciblé a été fait. Une nouvelle mutation a été trouvée touchant le site d'épissage au niveau du gène ERCC8 c.843+1G > C. Cette mutation engendre l'abolition du site consensus d'épissage au niveau de l'intron9 ce qui induit la délétion complète de l'exon9. D'autres tests sont en cours pour confirmer l'effet de la mutation.
Cette étude confirme l'intérêt d'utiliser le séquençage ciblé pour le diagnostic de maladies rares. De plus, on montre qu'il y a une mutation récurrente spécifique à la population Nord Africaine, et qu'il semble y avoir un mécanisme distinct du système de réparation de l'ADN, qui serait en cause de la maladie de CS et responsable du processus de vieillissement.

P123 : Encéphalopathie épileptique liée aux mutations de BRAT1: sept nouveaux patients

Auteurs :

Juliette Piard (1), Deborah Morris-Rosendahl (2), Audrey Putoux (3), Geoffroy Delplancq (1), Christelle Cabrol (4), Joanna Belleville-Goffeney (5), Laurent Pasquier (6), Elise Brischoux-Boucher (1), Bern Wollnik (7), Gökhan Yigit (7), Beate Albrecht (8), Gaetan Lesca (3), Laurent Villard (9), Patrick Edery (3), Damien Sanlaville (3), Nathalie Streichenberger (10), Cécilia Altuzarra (11), Kerstin Kutsche (12), Frederike Leonie Harms (13), Lionel Van Maldergem (1)

1. Centre de génétique humaine, CHU, Université de Franche-Comté, Besançon, France
2. Institute of Human Genetics, Albert-Ludwigs University of Freiburg Medical Centre, Freiburg, Allemagne
3. Service de génétique, Hospices Civils de Lyon, Université Claude bernard Lyon 1, Lyon, France
4. Centre de génétique humaine, CHU Besançon, Université de Franche-Comté, Besançon, France
5. Service de pédiatrie, CHU Besançon, Université de Franche-Comté, Besançon, France
6. service de génétique, CHU Rennes, Rennes, France
7. Institute of Human Genetics, University of Cologne, Cologne, Allemagne
8. Institute of Human Genetics, University Clinic Essen, Essen, Allemagne
9. Laboratoire de neuroscience de la Timone, APHM, Marseille, Marseille, France
10. Service d'anatomie pathologique, Hospices Civils de Lyon, Université Claude bernard Lyon 1, Lyon, France
11. Service de pédiatrie, CHU, Université de Franche-Comté, Besançon, France
12. Insitute of Human Genetics, University of Hambourg, Hambourg, Allemagne
13. Institute of Human Genetics, University of Hambourg, Hambourg, Allemagne

Mots clefs : BRAT1, encéphalopathie néonatale, épilepsie, électroencéphalogramme, suppression-burst

Résumé :

L'encéphalopathie épileptique décrite en 2012 par Puffenberger dans la communauté Amish est caractérisée par une rigidité sévère, une épilepsie multifocale et un décès précoce. Il s'agit d'une affection récessive autosomique liée aux mutations de *BRAT1* (*BRCA-associated ATM activator 1* gene ; MIM*614506), Elle a été confirmée chez 25 autres patients depuis. 16 mutations faux-sens et non-sens ont été rapportées à ce jour, en homozygotie ou en hétérozygotie composite, déterminant troncation de la protéine ou faux-sens. De manière intéressante, les patients dont la survie est prolongée jusqu' à l'âge de 10 ans sont hétérozygotes composites pour deux mutations faux-sens. Nous rapportons ici 7 observations supplémentaires correspondant à deux familles multiplex originaires d'Afrique du nord et deux cas de survenue sporadique. L'hypertonie alterne avec une hypotonie. Le tableau neurologique est très sévère, souvent létal et l'épilepsie reste résistante aux traitements. L'IRM cérébrale peut retrouver un défaut de myélinisation, une atrophie progressive et un corps calleux fin mais reste cependant normale dans plusieurs cas. Chez un de nos patients, une hypoplasie vermienne est observée. La neuropathologie pour l'un d'entre eux indique la disparition de la couche des cellules granulaires du cervelet. Les origines géographiques, l'âge de décès et les bases moléculaires sont les suivants [hg19] :

- deux frères d'origine algérienne, issus d'un couple consanguin, décédés à 3 et 6 semaines de vie: homozygotie c.2068G > T(p.Glu690*).
- deux frères et une sœur d'origine germanique issus de parents non apparentés, décédés à 3 et 4 mois de vie: hétérozygotie composite c.228insA(p.Leu77Thrfs*114) et c.638insA(p.Val214Glyfs*189).
- une patiente française décédée à 14 mois: hétérozygotie composite c.458A > C(p.Gln153Pro) et c.294dupA(p.Leu99fs).
- une patiente française décédée à 1 mois: hétérozygotie composite c.294dupA(p.Leu99fs) et c.2125_2128del(p.Phe709fs).

Le tableau clinique de ces patients est remarquablement similaire : encéphalopathie néonatale, myoclonies associées à des crises convulsives multifocales pharmaco-résistantes, hypertonie globale et décès précoce. L'EEG retrouve un aspect de suppression-burst. Une microcéphalie est parfois associée. Une dysplasie corticale est observée à l'autopsie chez une patiente. L'imagerie cérébrale est tantôt normale, tantôt indique atrophie corticale ou gracilité calleuse. Il s'agit certainement d'un des premiers diagnostics à évoquer en cas d'encéphalopathie épileptique néonatale sévère avec rigidité.

P124 : Étude HUGODIMS : identification des causes moléculaires de déficiences intellectuelles par séquençage d'exomes en trio

Auteurs :

Anne-Sophie Denommé-Pichon (1, 2), Sébastien Küry (3, 4), Benjamin Cogné (3, 4), Alban Ziegler (1, 5), Sébastien Schmitt (3, 4), Xenia Latypova (3, 4), Christian Dina (4), Audrey Donnart (4), Pierre Lindenbaum (4), Éric Charpentier (4), Bertrand Isidor (3, 4), Laurent Pasquier (6, 7), Sandra Mercier (3, 4), Claude Ferec (8, 9), Philippe Parent (10, 9), Frédéric Bilan (11, 12), Estelle Colin (1, 5), Brigitte Gilbert-Dussardier (11, 12), Sylvie Odent (6, 7), Annick Toutain (13, 14), Richard Redon (4), Dominique Bonneau (1, 5), Stéphane Bézieau (3, 4)

1. Département de biochimie et génétique, CHU d'Angers, Angers, France
2. Laboratoire de génétique, CHRU de Nancy, Vandœuvre-lès-Nancy, France
3. Service de génétique médicale, CHU de Nantes, Nantes, France
4. INSERM, CNRS, l'Institut du Thorax, Université de Nantes, Nantes, France
5. INSERM UMR 1083, Université d'Angers, Angers, France
6. Service de Génétique Clinique, CHU de Rennes, Rennes, France
7. CNRS UMR 6290, Université de Rennes 1, Rennes, France
8. Laboratoire de Génétique Moléculaire et d'Histocompatibilité, CHRU de Brest, Brest, France
9. INSERM UMR 1078, Université de Bretagne Occidentale, Brest, France
10. Service de Génétique, CHRU de Brest, Brest, France
11. Service de Génétique, CHRU de Poitiers, Poitiers, France
12. EA3808, Université de Poitiers, Poitiers, France
13. Service de génétique, CHRU de Tours, Tours, France
14. INSERM UMR 930, Université François-Rabelais de Tours, Tours, France

Mots clefs : Déficience intellectuelle, trio, exome, génome, séquençage haut débit

Résumé :

Contexte – La déficience intellectuelle (DI) modérée ou sévère, touchant environ un enfant sur 250, correspond à un ensemble hétérogène de maladies monogéniques rares. Les techniques chromosomiques et moléculaires traditionnelles ne permettent d'établir un diagnostic étiologique que dans 40 % des cas environ. La DI sévère peut être expliquée dans 60 % des cas par la survenue de mutations *de novo* dans les régions codantes. L'étude HUGODIMS avait pour objectif d'identifier les causes moléculaires de DI modérées ou sévères chez 75 patients par séquençage de l'exome en trio (enfants / parents).
Méthodologie – Des patients présentant une DI modérée ou sévère, isolée ou syndromique inexpliquée, sans antécédents familiaux, ont été inclus par les généticiens du centre de référence du CLAD Ouest. Après avoir écarté le syndrome de l'X fragile et en l'absence d'anomalie révélée par hybridation génomique comparative, les exomes de 75 trios ont été séquencés. Les variants candidats retenus ont été confrontés à l'expertise clinico-biologique des généticiens du CLAD Ouest.
Conclusions – L'analyse des mutations ponctuelles, des petites indels et des CNV a conduit à un diagnostic de certitude dans 30 % des cas. Si l'on considère l'ensemble des variants candidats, un diagnostic moléculaire a été établi chez plus de 50 % des patients et de nouveaux gènes de DI ont été identifiés chez près de 20 % des patients, dont certains sont déjà publiés (*CHAMP1*, *PSMD12*, *GNB1*, *TRIP12*, *CAMK2A*, *CAMK2B*). Nos résultats confirment l'efficacité du séquençage exomique par trio chez des patients atteints de DI modérée ou sévère. Ils soulignent l'importance du dialogue entre cliniciens et biologistes lors de l'analyse des variants pour l'établissement d'un diagnostic étiologique, pour la compréhension génétique et moléculaire des mécanismes des DI et pour l'identification de nouveaux gènes et voies moléculaires impliqués dans la DI.
Le projet se poursuit par le séquençage en trio de 75 nouveaux exomes et de 20 génomes de patients négatifs issus d'HUGODIMS.

P125 : Case report: premier cas de rétraction en mosaïque d'un allèle prémuté sans mutation complète dans le gène FMR1 chez un fœtus masculin

Auteurs :

Anne-Sophie Denommé-Pichon (1, 2), Virginie Roth (1), Gauthier Giordano (1, 2), Sandrine Péré (1), Frédéric Weber (1), Philippe Jonveaux (1, 2)

1. Laboratoire de génétique, CHRU de Nancy, Vandœuvre-lès-Nancy, France
2. INSERM UMR 954, Université de Lorraine, Vandœuvre-lès-Nancy, France

Mots clefs : FMR1, X fragile, mosaïque, rétraction

Résumé :

Le syndrome de l'X fragile (FXS) associe une déficience intellectuelle légère à sévère à des troubles du comportement et à des signes physiques caractéristiques. C'est une maladie génétique liée à l'X par amplification de triplets. Elle est due à l'inhibition de la transcription du gène *FMR1* (Xq27.3), causée par l'expansion de la répétition de triplets CGG dans sa région 5' non traduite.
On distingue 4 classes d'allèles en fonction du nombre de répétitions CGG au locus *FMR1*. Les allèles normaux (< 45 CGG) sont stables lors de la transmission. Les allèles intermédiaires, ou allèles de la zone grise (GZ), (45 à 54 CGG) ne sont pas associés à la maladie de l'X fragile, mais sont parfois sujets à une faible instabilité et peuvent conduire à un allèle de taille supérieure lors de la transmission. Les prémutations (PM) (55 à 200 CGG) sont instables et peuvent subir une expansion pendant la transmission maternelle, conduisant à une mutation complète (FM) sur le chromosome X de la génération suivante, avec plus de 200 CGG.
Les mosaïques de taille dans le FXS sont présentes chez environ 15 % à 40 % des patients avec, le plus souvent, une FM associée à une PM, conduisant à des phénotypes qui peuvent être plus modérés.
Bien que l'instabilité de la répétition de trinucléotides entraîne presque toujours une expansion du nombre de CGG lors d'une transmission maternelle, une rétraction de l'allèle peut survenir lors de la transmission à la génération suivante, par exemple par le passage d'une PM chez un individu à un GZ chez sa descendance. Les rétractions de répétitions CGG surviendraient dans moins de 1 % des cas.
Des cas de FXS associant mosaïque et rétraction ont déjà été décrits. Il s'agit de FM, issues d'amplification de PM chez les ascendants, associées en mosaïque à des rétractions en GZ ou en allèle normal.
Nous souhaitons décrire le premier cas à notre connaissance de mosaïque avec rétraction sans amplification associée, avec rétraction d'une prémutation en allèle intermédiaire et conservation de la prémutation dans le gène *FMR1*, soit un génotype PM/GZ en mosaïque. Il s'agit d'un fœtus masculin, ayant bénéficié d'un dépistage prénatal en raison de la présence d'une PM chez sa mère. Nous discuterons également les mécanismes possibles de cet événement.

P126 : Mutation de novo du gène TUBB responsable d'une lissencéphalie et de plis cutanés circonférentiels : une nouvelle entité dans le spectre des tubulinopathies

Auteurs :

Jacques L. MICHAUD (1, 2), Françoise RYPENS (3), Sarah BOISSEL (4), Marie-Ange DELRUE (5, 6), Catherine FALLET-BIANCO (7, 8)

1. Pédiatrie, Université de Montréal, Montréal, Canada, Montréal , Canada
2. Pédiatrie, CHU Sainte-Justine, Montréal, Canada, Montréal , Canada
3. Département de Radiologie, Nom entreprise - facultatif, Montréal , Canada
4. Génétique, CHU Sainte-Justine, Montréal, Canada, Montréal, Canada
5. Département de Pédiatrie, Université de Montréal, Montréal, Canada, Montréal , Canada
6. Département de Pédiatrie, CHU Sainte-Justine, Montréal, Canada, Montréal , Canada
7. Département de Pathologie, Université de Montréal, Montréal, Canada, Montréal , Canada
8. Département de Pathologie, CHU Sainte-Justine, Montréal , Canada

Mots clefs : Tubulinopathies, TUBB, lissencéphalie, plis cutanéscirconférentiels congénitaux

Résumé :

Les mutations des gènes codant pour les tubulines définissent un groupe de conditions caractérisées essentiellement par des malformations cérébrales rarement associées à des traits dysmorphiques. Le spectre phénotypique associé aux tubulinopathies reste incomplètement défini. Des mutations du gène **TUBB** ont, en effet,récemment été décrites chez 6 enfants présentant une maladie rare caractérisée par des plis cutanés circonférentiels congénitaux décrits sous le nom de "Bébés Michelin" associés à une dysmorphie faciale avec microcéphalie, déficience intellectuelle et inconstantes anomalies calleuses.
Nous rapportons un foetus chez lequel a été réalisée une interruption médicale de grossesse à 28 semaines, après identification échographique, puis par IRM prénatale, d'une microcéphalie précoce avec agénésie calleuse et hypoplasie cérébelleuse. Le caryotype était normal et un séquençage de l'exome du foetus et de ses parents a été réalisé.
L'examen post-mortem de ce foetus de sexe masculin révélait une dysmorphie faciale majeure avec microcéphalie ainsi que la présence de plis cutanés circonférentiels du cou, du dos et des membres supérieurs. L'étude neuropathologique confirmait les anomalies cérébrales identifiées en imagerie prénatale et montrait un aspect dysmorphique des noyaux gris centraux. L'éude histologique révélait, en outre, une cytoarchitecture anormale du néocortex avec présence de structures glomérulaires, des hippocampes malformés, des hétérotopies neuronales et un développement anormal des olives bulbaires et noyaux dentelés du cervelet suggérant un trouble de la migration neuronale. Des anomalies du tractus corticospinal associées à l'agénésie calleuse suggéraient une anomalie de la guidance axonale. Enfin, les zones germinales montraient un volume anormalement élevé, très inhabituel dans ce contexte de microlissencéphalie. L'association de ces éléments, particulièrement la présence de structures glomérulaires et de volumineuses zones germinales était très évocatrice d'une tubulinopathie. Le séquençage de l'exome a révélé la présence d'une mutation de novo dans le gène **TUBB** (NM_001293212;c.C920T:p.P307L). Cette mutation n'a pas été identifiée dans ExAC et est prédite potentiellement dommageable par une série d'outils bioinformatiques (Sift:0;Polyphen:0.558;CADD:11.86). Le séquençage Sanger a confirmé la présence de la mutation chez le foetus et son absence chez les parents.
Le phénotype neuropathologique de ce foetus est identique à celui observé dans d'autres tubulinopathies, bien que les mutations de ce gène **TUBB** n'aient pas encore été rapportées dans des malformations cérébrales isolées. L'association, chez ce foetus, de plis cutanés circonférentiels congénitaux, d'une dysmophie faciale et de malformations cérébrales caractéristiques, résultant d'une mutation du gène **TUBB** représente une forme particulièrement sévère qui élargit le spectre des **Tubulinopathies.**

P127 : Mieux comprendre et mieux diagnostiquer la déficience intellectuelle causée par des mutations du gène DYRK1A

Auteurs :

jérémie courraud (1), MArjolaine Willems (2), Marie Vincent (3), cyril mignot (4), Salima El Chehadeh (5), Michèle Mathieu-Dramard6 (6), Vincent Laugel (7), NAdège Calmels (8), mathilde nizon (9), Bruno Delobel (10), David Genevieve (11), LAurence Faivre (12), Jamel Chelly (13), Bénédicte Gerard (14), Jean-Louis Mandel (13), Amélie Piton (15)

1. , IGBMC, Illkirch, France
2. SErvice de génétique clinique, CHRU Montpellier, Montpellier, France
3. SErvice de génétique clinique, Hôpital Mère-Enfant, Nantes, France
4. APHP, Département de Génétique, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France
5. Service de génétique clinique, hopitaux universitaires de strasbourg, strasbourg, France
6. nité de Génétique Clinique, CHU d'Amiens, Amiens, France
7. Service de neuropédiatrie, hopitaux universitaires de strasbourg, strasbourg, France
8. laboratoire de génétique moléculaire, hopitaux universitaires de strasbourg, strasbourg, France
9. SErvice de génétique clinique, CHU Nantes, Nantes, France
10. Centre de Génétique Chromosomique GHICL, Hôpital Saint Vincent de Paul, Lille, France
11. Département de Génétique Médicale, Centre de Référence Maladies Rares Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs Sud-Languedoc Roussillon, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
12. Centre de génétique clinique, Hôpital d'Enfant Dijon France, Dijon, France
13. Département de neurogénétique médecine translationnelle, IGBMC, Illkirch, France
14. Laboratoire de Diagnostic Génétique, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, , Strasbourg, France
15. Département de neurogénétique médecine translationnelle, IGBMC, Strasbourg, France

Mots clefs : déficience intellectuelle, mutations, DYRK1A, expression génique

Résumé :

Heterozygous de novo loss-of-function mutations in DYRK1A cause a syndromic form of Intellectual disability (ID) associated with growth retardation including microcephaly, specific dysmorphy, stereotypy, ataxia and other variable clinical features (Mental Retardation, autosomal dominant 7, MRD7). MRD7 is a frequent cause of ID as loss-of-function mutations are found in around 0.5% of ID patients. DYRK1A encodes a protein serine/threonine kinase expressed throughout life, involved in many cellular processes, among them the regulation of gene expression or splicing. We have investigated the consequensis of the different mutations identified, and particularly of the missense variants, on DYRK1A function. We have performed transcriptomic studies to identify alterations of gene expression or splicing occuring in patient's fibroblasts and neural precursor cells inactivated for DYRK1A. We also showed that DYRK1A inactivation in neural precursor cells decrease their proliferation. In parallel, we have undertaken to better define the clinical manifestations associated to DYRK1A mutations in French patients. The better delineation of the clinical spectrum of MRD7 and the development of functional tests for missense variants will be useful to improve diagnosis of patients affected by this frequent form of ID.

P128 : Le syndrome de Cockayne : à propos d'une série tunisienne de 19 cas.

Auteurs :

Sana Skouri (1), Rim Meddeb (1), Faouzi Maazoul (1), Lilia Kraoua (1), Ines Ouertani (1), Mediha Trabelsi (1), Ridha Mrad (1)

1. Service de Maladies Congénitales et Héréditaires , Hôpital Charles Nicolle de Tunis, Tunis, Tunisie

Mots clefs : Syndrome de Cockayne, retard mental, microcéphalie

Résumé :

Le syndrome de Cockayne (SC) est une maladie multi systémique qui se caractérise par une dysmorphie faciale évocatrice, un retard staturo-pondéral, une photosensibilité et un retard mental. Elle fait partie du groupe des maladies dues à une anomalie de réparation de l'ADN par excision de nucléotides. Il s'agit d'une maladie à transmission autosomique récessive, due à la mutation de deux gènes majeurs ERCC6 et ERCC8. Le diagnostic positif est établi sur des critères cliniques et il est confirmé par un test de réparation de l'ADN sur fibroblastes ou par étude moléculaire.

But :

Présenter les particularités cliniques d'une série tunisienne de patients atteints de SC.

Matériel et méthode :

Analyse des observations clinique de 19 patients atteints de CS suivis au service de Maladies Congénitales et Héréditaires de l'Hôpital Charles Nicolle de Tunis.

Résultats :

Il s'agit de 11 cas sporadiques et 8 cas familiaux. Le sexe ratio était 1,3. L'âge moyen à la première consultation était de 3ans et 11 mois. Le diagnostic était clinique chez 18 patients et moléculaire chez un patient.

Tous les patients présentaient les critères majeurs du SC: un retard de croissance avec microcéphalie et retard mental. Les anomalies notées à l'imagerie cérébrale étaient : des dilatations ventriculaires (4/19 cas), une atrophie cortico-sous corticale (6/19 cas), une atrophie cérébelleuse (3/19 cas), des calcifications intracrâniennes (3/19 cas), une atrophie du corps calleux (2/19 cas) et une leucomalacie (1/19 cas). Parmi les critères mineurs, on a retrouvé dans notre cohorte : la photosensibilité cutanée (13/19 cas), une neuropathie axonale (2/19 cas), une rétinopathie pigmentaire (1/19 cas), une cataracte (7/19 cas), une surdité (5/19 cas) des anomalies dentaires (5/19 cas) et une énophtalmie chez (18/19 cas). Par ailleurs, d'autres atteintes ont été observées : une épilepsie (4/19 cas), une microphtalmie (7/19 cas), un nystagmus horizontal (3/19 cas), une cyphoscoliose (10/19 cas), des anomalies génitales (5/19 cas). Nous avons également retrouvé un syndrome hémolytique urémique chez un patient et un néphroblastome chez un autre.

Les patients de notre série ont été classés selon l'âge d'installation des signes cliniques en 14/19 cas atteints de SC type I et 6/19 cas de type II. Pour les trois formes familiales, la sévérité du tableau clinique était la même au sein d'une même fratrie.

Dans notre série l'âge moyen des patients encore vivants est de 15 ans pour le type I et de 12 ans pour le type II.

Conclusion :

Le CS est une maladie neurodégénérative rare et sévère avec un large spectre clinique. La distinction clinique et génétique entre les différents groupes de sévérité est souvent difficile à faire d'autant plus que la corrélation génotype-phénotype n'est pas parfaitement établie.

P129 : L'apport du séquençage de génome entier dans l'identification de facteurs génétiques modificateurs du syndrome de Phelan-McDermid.

Auteurs :

Anne-Claude Tabet (1), Thomas Rolland (2), Claire Leblond-Manry (2), Freddy Cliquet (2), Alexandre Mathieu (2), Nathalie Lemière (2), Brigitte Benzacken (3), Yline Capri (4), Sandra Chantot-Bastaraud (5), Christele Dubourg (6), Celine Dupont (7), Laurence Faivre (8), Marion Gerard (9), Brigitte Gilbert Dussardier (10), Damien Haye (11), Boris Keren (12), Cedric Le Caignec (13), Jonathan Lévy (7), Cyril Mignot (14), Anne-Laure Mosca-Boidron (15), Laurence Perrin (16), Eva Pipiras (17), Chloe Quelin (18), Caroline Rooryck (19), Myriam Rachid (7), Damien Sanlaville (20), Philippe Vago (21), Gaelle Vieville (22), Catherine Yardin (23), Alban Ziegler (24), Frederique Amsellem (25, 2), Anna Maruani (25, 2), Richard Delorme (26), Thomas Bourgeron (27)

1. UF de Cytogénétique -Département de Génétique/ Unité GHFC, département de neurosciences, Hôpital Robert Debré (AP-HP) - Paris - France/Institut Pasteur, Paris, France, paris, France
2. Unité GHFC, département de neurosciences, Institut Pasteur, paris, France
3. UF de Cytogénétique , Hopital Jean-Verdier, Bondy, France
4. UF de Génétique Clinique-Département de Génétique, Hôpital Robert Debré (AP-HP) - Paris - France, paris, France
5. Laboratoire de Cytogénétique, Hôpital Trousseau, paris, France
6. Laboratoire de Cytogénétique, CHU Rennes, rennes, France
7. UF de Cytogénétique -Département de Génétique, Hôpital Robert Debré (AP-HP) - Paris - France, paris, France
8. Centre de génétique, Hôpital d'enfants de Dijon, Dijon, France
9. Service de génétique clinique, CHU Caen, caen, France
10. Service de génétique clinique, CHU Poitiers, poitiers, France
11. génétique clinique, La Pitié Salpétrière, paris, France
12. génétique chromosomique, Hôpital Pitié Salpétrière, paris, France
13. Génétique médical, Hôpital de Nantes, Nantes, France
14. Service de génétique clinique, CHU La Pitié Salpétrière, paris, France
15. Laboratoire de Cytogénétique, Hôpital de Dijon, Dijon, France
16. Service de génétique clinique, Hôpital Robert Debré (AP-HP) - Paris - France, Paris, France
17. Service d'Histologie-Embryologie et Cytogénétique, Biologie de la Reproduction,, Hôpital Jean Verdier (AP-HP), Bondy, France
18. Service de Génétique Clinique, CHU Rennes, Rennes, France
19. Service de Cytogénétique, CHU Bordeaux, Bordeaux, France
20. Service de génétique, CHU de Lyon HCL - GH Est - Hôpital Femme Mère Enfant, Lyon, France
21. Service de Cytogénétique, CHU Clermont Ferrand, clermont Ferrand, France
22. Unité de génétique chromosomique, Hôpital Couple - Enfant CHU de Grenoble, Grenoble, France
23. Service d'histologie, Cytologie, Cytogénétique, CHU Dupuytren, Limoges, France
24. Service de génétique clinique, CHU LE Mans, Le Mans, France
25. Service de psychopathologie de l'enfant et de l'adolescent, Hôpital Robert Debré (AP-HP) - Paris - France, paris, France
26. Département de psychopathologie de l'enfant et de l'adolescent, Hopital Robert Debré, Unité GHFC-Institut Pasteur, paris, France
27. Unité GHFC, département de neurosciences, Institut Pasteur, Paris, France

Mots clefs : Syndrome de Phelan-McDermid, SHANK3, Whole Genome Sequencing, facteurs modificateurs

Résumé :

Le syndrome de Phelan-McDermid (SPM) est une pathologie neurodéveloppementale résultant d'un remaniement 22q13 impliquant le plus souvent *SHANK3*, gène majeur du syndrome. La variabilité clinique est en partie liée à la taille du déséquilibre 22q13 mais les facteurs capables de moduler le phénotype restent mal connus.
Dans une étude préliminaire française regroupant les données clinique et génétique de 85 patients nous montrons que tous les patients ont une déficience intellectuelle et un trouble du langage allant pour la moitié d'entre eux jusqu'à l'absence totale de langage, 50% présentent un trouble du spectre autistique (TSA) mais six seulement ont eu des tests standardisés. Les anomalies du corps calleux concernent 28% des 35 patients ayant eu une IRM cérébrale.
Le diagnostic biologique des patients reposait sur une analyse par puce à ADN. L'analyse multivariée des données a montré i) que les patients avec TSA portent de petites délétions alors que ceux souffrant d'un trouble sévère du langage ont des délétions de grande taille, ii) la présence d'un second locus associé aux troubles sévères du langage, iii) l'existence chez plusieurs patients, de variations génomiques additionnelles impliquées dans des pathologies neurodéveloppementales (microdélétion, microduplication 16p11.2 ou 15q11.2), capables de moduler la sévérité du phénotype. Enfin, nous avons identifié pour la première fois, une délétion familiale de *SHANK3* transmise d'une mère asymptomatique à ses enfants atteints, rapportant le premier cas de patient « résilient » *SHANK3* capable de compenser une mutation délétère. Les limites de notre

étude sont l'absence de données clinique standardisées, l'hétérogénéité des données génétique (utilisation de plateformes de puce à ADN variées) et l'échantillon de petite taille.
Afin de palier à ces limites, confirmer nos hypothèses et identifier la présence de gènes ou de voies biologiques enrichies en mutations qui moduleraient la sévérité des symptômes cliniques, nous avons initié un projet Européen qui regroupera plus de 200 patients.
L'objectif est d'obtenir des données cliniques rigoureuses à l'aide de tests standardisés d'évaluation du neurodéveloppement, préciser la clinique et les données de neuroimagerie. Le génome complet des patients et des apparentés sera séquencé afin (1) de cartographier les remaniements 22q13 (caractérisation des points de cassure, identification de mutations sur l'allèle controlatéral), et (2) d'identifier et caractériser les variations génomiques additionnelles. Nous utiliserons également les réseaux d'interactions protéines-protéines ou de co-expression pour rechercher des mutations dans les partenaires protéiques de *SHANK3* ou dans les gènes co-exprimés dans le cerveau.
Nous présenterons notre étude et les premiers résultats du séquençage du génome complet des neuf individus de la famille multiplex dans laquelle ségrège la délétion de *SHANK3* transmise d'une mère asymptomatique à ses filles atteintes.

P130 : Une nouvelle DEAD-Box ARN Helicase, DDX6, est impliquée dans la déficience intellectuelle

Auteurs :

chris Balak (1), Veronique Geoffroy (2), maité Courel (3), jean muller (2), jean-francois Deleuze (4), Anne Boland (4), Hélène Dollfus (5), Jamel Chelly (6), Michèle Ernoult-Lange (3), Jean-Louis Mandel (6), Keri Ramsey (7), Dominique Weil (3), Amélie Piton (8)

1. Tgen, , Phoenix, Etats-Unis
2. Inserm U1112, , strasbourg, France
3. CNRS-UMR7622, upmc, Paris, France
4. Centre National de Recherche en Génomique Humaine, Institut de Biologie François Jacob, evry, France
5. Service de génétique clinique, hopitaux universitaires de strasbourg, strasbourg, France
6. Département de neurogénétique médecine translationnelle, IGBMC, Illkirch, France
7. Tgen, , phoenix, France
8. Département de neurogénétique médecine translationnelle, IGBMC, Strasbourg, France

Mots clefs : mRNA, regulation, déficience intellectuelle

Résumé :

Après différentes investigations génétiques négatives (CGH, X-fragile, séquençage ciblé de 456 gènes, séquençage d'exome en simplex), un séquençage de génome (WGS pour whole Exome Sequençing) en trio a mis en évidence, chez un patient présentant une déficience intellectuelle avec microcéphalie, un variant faux-sens p.(Cys390Arg) de novo dans le gène DDX6. Via le partage de données, un autre variant faux-sens de novo p.(Arg373Gln) affectant un acide aminé situé à proximité a pu être identifié chez un patient avec phénotype similaire. Le gène DDX6 code une protéine ARN hélicase ATP-dépendante de la famille des protéines DEAD box qui joue un rôle central dans la régulation des ARN, dont la formation des P-bodies, la dégradation des ARNm et la répression de leur traduction. Nous avons pu montrer que les variants faux-sens identifiés affectaient la formation des P-bodies (expériences de surexpression dans cellules HeLa et fibroblastes de patients) et qu'il existait une corrélation entre les gènes surexprimés chez le patient, ceux augmentés après inactivation de DDX6 par shRNA et ceux précédemment identifiés comme liés par DDX6. C'est le deuxième gène de la famille des ARN hélicases ATP-dépendante à être impliqué dans la déficience intellectuelle, après DDX3X. De plus en plus de gènes codant des protéines jouant un rôle dans la régulation des ARN (épissage, transport, dégradation et traduction) sont impliqués dans la déficience intellectuelle. En particulier certains nouveaux gènes de DI tels que CNOT3, AGO1, codant des protéines localisées elles-aussi dans les P-bodies et interagissant avec DDX6.

P131 : L'hypoplasie vermienne sévère: une clé diagnostique de l'hypoplasie pontocérébelleuse de type 8

Auteurs :

damien HAYE (1), Laurence PERRIN (2), Stéphanie VALENCE (3), Diana RODRIGUEZ (3), Lydie BURGLEN (4)

1. Département de Génétique, GH Pitié Salpêtrière, Paris, France
2. Département de Génétique, Hôpital Robert Debré, Paris, France
3. Service de Neuropédiatrie, Hôpital Trousseau, Paris, France
4. Département de Génétique, Hôpital Trousseau, Paris, France

Mots clefs : PCH8 CHMP1A

Résumé :

L'hypoplasie pontocérébelleuse de type 8 (HPC8) est une maladie récessive rare due à des mutations du gène *CHMP1A* qui code pour une protéine qui semble jouer un rôle dans la prolifération de cellules progénitrices du sytème nerveux central. Nous rapportons l'observation d'un patient atteint d'HPC8.
Il s'agit d'un patient âgé de 14 mois qui a un tableau clinique associant un retard de croissance, une microcéphalie sévère, un retard de développement, un corps calleux fin et une hypoplasia du vermis et des hémisphères cérébelleux. Le séquençage ciblé par méthode Sanger a permis l'identification à l'état homozygoye d'une mutation non-sens c.427C>T (p.Gln143*) de l'exon 6 du gène CHMP1A.
Les patients atteints d'HPC8 ont un retard pyschomoteur, une microcéphalie, des mouvements anormaux, une hypotonie, une spasticité, des contractures articulaires. L'imagerie cérébrale est caractéristique et montre une diminution de la substance blanche, un corps calleux et un tronc cérébral fins et une hypoplasia vermienne sévère avec une préservation relative des folium. Cette imagerie cérébrale doit faire évoquer deux diagnostics différentiels : l'hypoplasie ponto-cérébelleuse associée à des mutations du gène VLDLR et les formes sévères d'hypoplasie ponto-cérébelleuse associées à des mutations du gène CASK. Des particularités à l'IRM cérébrale permettent cependant de différencier ces entités.
L'aspect de l'imagerie cérébrale d'un patient atteint d'HPC8 est donc caractéristique et conduit au séquençage ciblé du gène CHMP1A.

P132 : Apport de la Méthyl-PCR dans le diagnostic du syndrome de Prader Willi / Angelman

Auteurs :

SIHAM HALLAL (1), Lyès Yargui (1)

1. Laboratoire central de Biochimie, CHU Mustapha-Alger-Algérie, Alger, Algérie

Mots clefs : ADN, Méthyl-PCR, gènes, mutation, syndrome, Prader Willi, Angelman

Résumé :

Les syndromes de Prader Willi et d'Angelman sont des pathologies d'origine génétiques, responsable de déficience intellectuelle modérée à sévère chez l'enfant. Le syndrome de PW est caractérisé par une hyperphagie entrainant une obésité constante, un microgénitalisme, et des troubles endocriniens sont fréquemment décrits. Le syndrome d'angelman associe une microcéphalie et des rires inappropriés.
Les deux gènes incriminés SNRPN et UBE3A, situés sur le chromosome 15, sont sous les deux soumis à empreinte parentale. Ils sont dus dans la majorité des cas à une micro-délétion, ou à une disomie uniparentale.
La mise au point de la technique de Méthyl-PCR, mettant à profit le statut de méthylation au niveau de la région incriminée, en procédant à un traitement préalable de l'ADN au bisulfite suivie d'une amplification spécifique nous a permis depuis 2010 de diagnostiquer 18 cas de Prader Willi, et 25 cas d'angelman.
Nous traitant annuellement une centaines de demandes, émanant des différents services de neurologie et de pédiatrie du territoire nationale.
Cette technique présente l'avantage d'être rapide, fiable, et relativement peu couteuse. Son seul défaut est la possibilité de fragmentation d'ADN lors du traitement au bisulfite.

P133 : Les mutations perte de fonction ou l'haploinsuffisance du gène ZC4H2 lié au chromosome X sont responsables d'une forme sévère d'arthrogrypose multiple congénitale avec atteinte nerveuse centrale et périphérique.

Auteurs :

Danisa MERIC (1), Sandra WHALEN (2), Nicole REVENCU (3), Sébastien LEBON (4), Chantal DURAND (5), Pierre-Simon JOUK (6), julien fauré (7), Klaus DIETERICH (7)

1. Univ. Grenoble Alpes, Grenoble Institut des Neurosciences, Grenoble, France
2. Génétique Médicale, Hôpital Trousseau, Paris, France
3. Génétique Médicale, Université Catholique , Louvain, Belgique
4. Neuropédiatrie et Neuroréhabilitation Pédiatrique, CHU Vaudois, lausanne, Suisse
5. Imagerie pédiatrique, CHU Grenoble Alpes, Grenoble, France
6. Génétique Médicale, CHU Grenoble Alpes, Grenoble, France
7. Univ. Grenoble Alpes, Grenoble Institut des Neurosciences, GIN, F--38000 Grenoble, France, CHU de Grenoble, F--38000 Grenoble, France, grenoble, France

Mots clefs : ZC4H2, arthrogrypose multiple congénitale, perte de fonction, retard mental

Résumé :

Background: Arthrogryposis multiplex congenita (AMC) is characterized by congenital contractures of multiple joints with constant limb involvement that are always secondary to diminished fetal movement. Missense and splicing mutations, genomic rearrangements and deletions involving the zinc-finger gene ZC4H2 on chromosome Xq11.2 have been identified in boys presenting with AMC, severe psychomotor retardation, and distal muscle weakness. Female carriers were asymptomatic or presented with mild intellectual disability (60%; 15/24), congenital joint contractures (55%, 13/23), and rarely distal muscle weakness (25%; 6/23).
Objective: Our aim was to present clinical and muscle MRI phenotypes of five female patients diagnosed with arthrogryposis multiplex congenita and severe psychomotor retardation linked to not previously described loss of function mutations or haploinsufficiency of ZC4H2.
Results: All five female patients had congenital arthrogryposis involving multiple joints, severe motor and intellectual retardation. Muscle weakness and ptosis were inconstant features (2/5) pointing to an associated involvement of the peripheral nervous system. Myoimaging performed in two patients showed severe muscle atrophy predominant at the lower limbs (thigh, calf), but adductor longus and adductor brevis were preserved, further highlighting a peripheral nervous system involvement. Sanger sequencing of ZC4H2 gene revealed two nonsense mutations, one splicing mutation and two deletions in these patients. We could not identify a biased X chromosome inactivation on whole blood extracted DNA samples.
Conclusion: Loss of function mutations or haploinsufficiency of the X linked ZC4H2 gene are associated in females with a syndromic form of AMC with severe involvement of the central and peripheral nervous systems.

P134 : Duplication du gène PLP1 dans la forme classique de la maladie De Pelizaeus Merzbacher : à propos d'une famille

Auteurs :

Oussama Kettani (1), Mohamed Ahakoud (2), Leila Qebibo (3), Meriam Abbassi (3), Ihsan El Otmani (3), Said Trhanint (3), Hanane Sayel (3), Sanae Chaouki (4, 5), Laila Bouguenouch (2, 5), Karim Ouldim (3, 6)

1. Service de génétique médicale, CHU Hassan II, Fés , Maroc, Fès, Maroc
2. Service de génétique médicale, CHU Hassan II, Fes, Maroc
3. Service de génétique médicale, CHU Hassan II, Fès, Maroc
4. Service de pédiatrie, CHU Hassan II, Fès, Maroc
5. Faculté de médecine et de pharmacie, Univérsité sidi Mohamed Ben Abdellah, Fès, Maroc
6. Faculté de médecine et de pharmacie, Univérsité sidi Mohamed Ben Abdellah, Fes, Maroc

Mots clefs : Pelizaues Merzbacher, PLP1,mutation, duplication

Résumé :

La maladie de Pelizaeus Merzbacher est une leucodystrophie liée à l'X entraînant retard de développement, nystagmus, hypotonie, spasticité et déficit intellectuel variable. Ces signes sont en rapport avec une mutation du gène PLP1 localisé dans la région Xq22 et qui code pour la protéine protéolopide PLP1 qui est une des composantes des protéines de la myéline. Il existe deux principales formes : la forme néonatale et la forme classique. La forme néonatale est de mauvais pronostic avec une progression rapide et un décès précoce, quant aux patients atteints de la forme classique ils peuvent survivre jusqu'à l'âge adulte.

Les mutations les plus fréquemment retrouvées peuvent être liées à des réarrangements types multiplication (essentiellement des duplications) ou à des mutations ponctuelles du gène PLP1.

Nous rapportons le cas d'une grande famille dont quatre de ses membres, de sexe masculin, sont atteints de la forme classique de la maladie, les signes cliniques ont commencé dès les premiers mois de vie et l'évolution a été marquée par l'installation d'une spasticité et par un retard du développement psychomoteur. L'étude moléculaire a retrouvé la mutation familiale, il s'agit d'une duplication de tous les exons du gène PLP1.

L'intérêt de ce travail est de décrire les différents aspects cliniques et moléculaires de la maladie de pelizaeus Merzbacher.

P135 : Anomalie de la décussation du tractus pyramidal chez des patients Kallmann présentant des mouvements en miroir

Auteurs :

Fabien Guimiot (1, 2), Laura González-Briceño (3), Emmanuel Sonnet (4), Annie Laquerrière (5), Véronique Kerlan (4), Douraied Ben Salem (6), Peter Gunczler (7), Nicolas de Roux (8, 9)

1. UF de foetopathologie, Hôpital Robert Debré, Paris, France
2. UMR INSERM 1141, Université Paris Diderot, Paris, France
3. Endocrinologie pédiatrique, Hôpital Necker - Enfants Malades, Paris, France
4. Endocrinologie, CHU Brest, Brest, France
5. Anatomie et cytologie pathologiques, Hôpital Charles Nicolle, Rouen, France
6. Radiologie, CHU Brest, Brest, France
7. Unité d'endocrinologie pédiatrique, Hôpital de la clinique Caracas, Caracas, Venezuela
8. Laboratoire de biochimie, Hôpital Robert Debré, Paris, France
9. UMR INSERM 1141, Université Parsi Diderot, Paris, France

Mots clefs : Syndrome de Kallmann, ANOS1, mouvements en miroir, tractus pyramidal

Résumé :

Les mouvements en miroir (MM) sont fréquemment associés au syndrome de Kallmann (KS). Ils sont principalement observés chez les patients présentant des mutations *ANOS1* (*KAL1*). Les MM n'ont jamais été décrits chez les femmes mutées pour *ANOS1*. Un défaut de l'inhibition controlatérale du tractus pyramidal a été proposé comme mécanisme des MM dans le KS, mais jamais encore démontré.
Nous rapportons une famille présentant une nouvelle mutation *ANOS1* dont les individus masculins présentent tous un KS et des MM et les individus féminins seulement des MM. Nous présentons également l'analyse par tractographie du tenseur de diffusion, du tractus pyramidal chez un individu masculin ainsi que l'analyse neuropathologique d'un fœtus muté pour *ANOS1* et médicalement interrompu pour agénésie rénale bilatérale et fente labio-palatine.
Un réarrangement complexe dans *ANOS1* a été retrouvé chez certains membres masculins et féminins de la famille (C2067_2070AGGA> TCCT; p.Glu642Alafs21), une mutation non-sens chez un autre individu (c.773G> A; pTrp258X) et une mutation chez le fœtus (c.769C> T; p.Arg257X). L'analyse par tractographie chez un individu de la famille a montré une absence de décussation des voies pyramidales. L'examen neuropathologique du fœtus a également révélé l'existence d'une hypo-dysplasie du tractus cortico-spinal au niveau du pont et de la moelle. L'analyse par immunohistochimie avec un anticorps monoclonal anti-ANOS1 d'un embryon humain de 8 semaines de développement montre l'expression d'ANOS1 au niveau des fibres de la moelle épinière ainsi que des cellules des ganglions de la racine dorsale.
L'ANOSMIN a été impliquée dans le guidage axonale et le développement des neurones olfactifs par un mécanisme chimiotactile. Nous proposons un mécanisme similaire à l'origine de la décussation des faisceaux pyramidaux, qui serait déficient en cas de mutation d'*ANOS1*.

P136 : Diagnostic Moléculaire du syndrome de Rett et Etude ''in silico'' des trois mutations identifiées dans une région hotspot du gène MECP2.

Auteurs :

Rania GHORBEL (1), Raouia GHORBEL (1), Neila Belguith (1), Aida Rouissi (2), Leila Ammar-Keskes (1), Naziha Gouider-Khouja (2), Faiza Fakhfakh (3)

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. Laboratoire de génétique moléculaire et fonctionnelle, faculte des sciences de sfax universite de sfax Tunisie, Sfax, Tunisie

Mots clefs : Syndrome de Rett, MECP2, (p.S355R), (p.R344G), (p.S332S).

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. Les signes les plus distinctifs sont la déficience intellectuelle avec l'apparition des mouvements stéréotypés des mains. Cette maladie 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 cette recherche est l'exploration de la cause génétique du syndrome de Rett par l'étude moléculaire du gène *MECP2* chez 3 patientes, réalisée par le séquençage direct des 4 exons du gène et des séquences introniques flanquantes et l'étude ''in silico'' des mutations identifiées.
Grâce au séquençage automatique du gène *MECP2*, nous avons réussi à identifier trois mutations ponctuelles qui sont (c.1065 C > A ; p.S355R), (c.1030 C > G ; p.R344G) et (c.996 C > T ; p.S332S), localisées dans l'exon 4 du gène *MECP2*.
En effet, la mutation (c.1065 C > A ; p.S355R) est une transversion qui substitue le résidu Sérine hautement conservé par un résidu Arginine à la position 355 de la séquence protéique. En outre, la mutation (c.1030 C > G ; p.R344G) est une transversion qui substitue le résidu Arginine hautement conservé par un résidu Glycine à la position 344 de la protéine. De plus, nous avons identifié la mutation synonyme (c.996 C > T ; p.S332S). Ces trois mutations n'ont pas été détectées dans 100 chromosomes de contrôle. Aussi, l'étude ''in silico'' des trois mutations identifiées a montré qu'elles sont localisées dans la région C-terminale de la protéine et qui peuvent affecter la structure et la fonction de la protéine MeCP2 d'ou sa capacité de réprimer la transcription.
En conclusion, cette étude a permis d'identifier trois mutations ponctuelles dont une est synonyme localisées au niveau de la région C-terminale de la protéine MeCP2 chez trois patientes atteintes du syndrome de Rett.

P137 : Identification d'une nouvelle mutation du gène PLP1 par NGS chez une famille marocaine atteinte de la forme néonatale de la maladie Pelizaeus-Merzbacher

Auteurs :

Jaber Lyahyai (1), Bouchra OULED AMAR BENCHEIKH (2), Siham Elalaoui (1), Maria Mansouri (1), Lamiae Boualla (1), Alexendre DIONNE-LAPORTE (3), Dan SPIEGELMAN (4), Patrick DION (5), Patrick COSSETTE (6), Guy ROULEAU (5), Abdelaziz SEFIANI (7)

1. Centre de Génomique Humaine, Université Mohammed V, Rabat, Maroc
2. Department of Neurology and Neurosurgery, McGill University, Montreal, Canada
3. Montreal Neurological Institute and Hospital, McGill University, Montreal, Canada
4. Montreal Neurological Institute and Hospital, McGill University, montreal, Canada
5. Department of Neurology and Neurosurgery, McGill University, montreal, Canada
6. Molecular Diagnostic Laboratory and Division of Medical Genetics, CHU Sainte-Justine, montreal, Canada
7. Centre de Génomique Humaine, Université Mohammed V, rabat, Maroc

Mots clefs : Missense mutation; PLP1 gene; connatal Pelizaeus-Merzbacher disease.

Résumé :

Epilepsy regroups a common and diverse set of chronic neurological disorders that are characterized by spontaneous, unprovoked, and recurrent epileptic seizures. Epilepsies have a highly heterogeneous background with a strong genetic contribution and various mode of inheritance. X-linked epilepsy usually manifests as part of a syndrome or epileptic encephalopathy. The variability of clinical manifestations of X-linked epilepsy may be attributed to several factors including the causal genetic mutation, making diagnosis, genetic counseling and treatment decisions difficult. We report the description of a Moroccan family referred to our genetic department with X-linked epileptic seizures as the only initial diagnosis. Knowing the new contribution of Next-Generation Sequencing (NGS) for clinical investigation, and given the heterogeneity of this group of disorders we performed a Whole-Exome Sequencing (WES) analysis and co-segregation study in several members of this large family. We detected a novel pathogenic PLP1 missense mutation c.251C>T (p.Ala84Asp) allowing us to make a diagnosis of Pelizaeus-Merzbacher Disease for this family. This report extends the spectrum of PLP1 mutations and highlights the diagnostic utility of NGS to investigate this group of heterogeneous disorders.

P138 : NGS révèle une mutation du gène ATM chez un patient marocain présentant une dystonie généralisée sans signes classiques d'ataxie-télangiectasie.

Auteurs :

Jaber Lyahyai (1), Maria Mansouri (1), Siham Elalaoui (1), Bouchra OULED AMAR BENCHEIKH (2), Rachid Mosseddaq (3), Alexendre DIONNE-LAPORTE (4), Dan SPIEGELMAN (5), Patrick DION (6), Abdelaziz SEFIANI (7), Guy ROULEAU (6)

1. Centre de Génomique Humaine, Université Mohammed V, Rabat, Maroc
2. Department of Neurology and Neurosurgery, McGill University, Montreal, Canada
3. Neurologie, Cabinet privé, rabat, Maroc
4. Montreal Neurological Institute and Hospital, McGill University, Montreal, Canada
5. Montreal Neurological Institute and Hospital, McGill University, montreal, Canada
6. Department of Neurology and Neurosurgery, McGill University, montreal, Canada
7. Centre de Génomique Humaine, Université Mohammed V, rabat, Maroc

Mots clefs : ATM, Primary Torsion Dystonia, Exome sequencing

Résumé :

BACKGROUND
Primary Torsion Dystonia (PTD) is a movement disorder characterized by repetitive twisting muscle contractions and postures. We present here a Moroccan family with 4 affected members with PTD inherited in autosomal recessive mode.
METHODS:
Mutational screening had ruled out DYT1, DYT2, DYT6 or DYT17 as the cause of the disorder. Exome sequencing was performed to attempt to identify the genetic cause of the disease in this family.
RESULTS:
After filtering of the variants, exome sequencing revealed 2 genes harboring potentially pathogenic homozygous variants. Of these, the ATM variant p.Leu2068Ser segregated perfectly with the PTD. This mutation has been predicted to be pathogenic.
CONCLUSIONS:
This result with other literature, questions the exclusivity of ATM mutations with Ataxia Telangiectasia. We propose that alpha-fetoprotein should be first screened in patients with recessive PTD, even in the absence of atxia or telangiectasia.

P139 : Mise en place des modalités de réunions de concertation pluridisciplinaire pour la prise en charge des patientes prédisposées héréditairement au cancer du sein. Une étude française

Auteurs :

Fanchon GILLMANN (1), Christophe Cordier (2), Nicolas Taris (2), Carole Mathelin (3), Christine MAUGARD (2)

1. Oncogénétique, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, strasbourg, France
2. Oncogénétique, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
3. Sénologie, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France

Mots clefs : BRCA, Cancer du sein, Réunion de concertation pluridisciplinaire

Résumé :

Bull Cancer 2016; 103: 571–583
Introduction > En France, 126 sites de consultation d'oncogénétique sont dédiés aux personnes dont les antécédents médicaux personnels et/ou familiaux sont évocateurs d'une prédisposition héréditaire aux cancers. Depuis 2012, l'INCa soutient 17 projets visant à accompagner le suivi et la prise en charge de ces personnes. Quatre missions leur ont été confiées dont celle d'assurer une activité de recours et d'expertise pour les cas les plus difficiles.
Méthodes > Nous avons réalisé une enquête auprès des médecins en oncogénétique afin d'évaluer les réponses apportées à cette 4e mission. L'étude concernait les modalités de mise en place des réunions de concertation pluridisciplinaire (RCP) pour la prise en charge des patientes prédisposées héréditairement au cancer du sein.
Résultats > Quatorze personnes issues de 12 régions françaises différentes, et de 10 projets sur les 17 soutenus, ont participé. Onze répondants ont déclaré présenter leur dossier en RCP d'onco-génétique (79 %), 5 en RCP de sénologie (36 %), 5 en RCP dédiée aux patientes à haut risque de cancer du sein (36 %) et 2 en RCP de réseau (14 %). Certaines structures présentent leurs dossiers dans plusieurs RCP.
Conclusion > Ces RCP aident à la prise de décision sans retarder en règle générale la mise en traitement ou les opérations planifiées. Il existe, cependant, des difficultés pour fédérer les intervenants, ainsi qu'un manque de moyen pour leur mise en place. Cette étude suggère donc la nécessité d'une standardisation du processus de ces RCP en tenant compte des spécificités de la problématique en oncogénétique, particulièrement la dimension familiale.

P140 : Risque d'anomalie chromosomique limitée au placenta après assistance médicale à la procréation (FIV/ICSI/IIU): résultats d'une étude monocentrique cas-témoins.

Auteurs :

Henri MARGOT (1), Lucie CHANSEL-DEBORDEAUX (2, 3), Perrine PENNAMEN (1, 4), Aline PAPAXANTHOS (2), Jérome TOUTAIN (1)

1. Génétique médicale, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France
2. Biologie de la reproduction, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France
3. Biologie de la reproduction, Université de Bordeaux, Bordeaux, France
4. Génétique médicale, Université de Bordeaux, Bordeaux, France

Mots clefs : Assistance médicale à la procréation, anomalies chromosomiques limitées au placenta, étude cas-témoin

Résumé :

Introduction : En comparaison avec les grossesses spontanées, un taux plus élevé d'aneuploïdie est observé chez les embryons obtenus après assistance médicale à la procréation (AMP), et les grossesses obtenues après AMP connaissent en outre des issues plus défavorables. Par ailleurs, les anomalies chromosomiques limitées au placenta ont été décrites comme présentes dans environ 1% du diagnostic prénatal réalisé après choriocentèse, et environ 10% de ces anomalies chromosomiques limitées au placenta seraient associées à des issues de grossesses défavorables (retard de croissance intra-utérin, mort fœtale *in utero*..). Ainsi, il est apparu intéressant de rechercher une association entre les grossesses obtenues après AMP et le risque de survenue d'une anomalie chromosomique limitée au placenta. Précédemment, trois études observationnelles de cohorte ont rapportées des résultats contradictoires sur ce sujet. Nous avons souhaité réévaluer l'association entre AMP et risque d'anomalie chromosomique limitée au placenta à partir d'une étude observationnelle monocentrique cas-témoins. **Méthodologie :** Entre 1997 et 2015, 19321 biopsies de trophoblaste ont été réalisées au Centre de Médecine Fœtale du CHU de Bordeaux. Le caryotype après culture des villosités choriales a systématiquement été réalisé. En cas de suspicion d'une anomalie chromosomique limitée au placenta, l'examen direct des villosités a été effectué, permettant de caractériser les anomalies de type 2 (*a priori* d'origine mitotique) et les anomalies de type 3 (*a priori* d'origine méiotique). Les cas observés ont ensuite été appariés à un nombre égal de témoins randomisés, chez lesquels le caryotype après culture était strictement normal. **Résultats** : Quatre-vingt-treize anomalies chromosomiques limitées au placenta (« cas ») ont été mises en évidence (93/19321=0,48%), composées de 50 anomalies de type 2 et de 43 anomalies de type 3. Parmi ces 93 cas, 4 grossesses avaient été obtenues après AMP (4/93=4,30%) ; chez les témoins, 5 grossesses avaient été obtenues après AMP (5/93=5,37%) (p=1, test exact de Fischer). Chez les patientes présentant une anomalie chromosomique limitée au placenta et ayant eu recours à l'AMP, 2 anomalies chromosomiques étaient de type 2 (*a priori* d'origine mitotique) et 2 anomalies chromosomiques étaient de type 3 (*a priori* d'origine méiotique) (p=1, test exact de Fischer). **Conclusion :** Les résultats de notre étude observationnelle cas-témoins confirmaient les résultats des études observationnelles de cohorte qui n'avaient pas mis en évidence d'association entre grossesse obtenue après AMP et risque accru d'anomalie chromosomique limitée au placenta. L'absence de biais entre le nombre d'anomalies placentaires *a priori* d'origine mitotique et méiotique chez nos patientes ayant eu recours à l'AMP représentait un argument supplémentaire pour une absence d'association entre AMP et risque d'anomalie chromosomique limitée au placenta.

P141 : L'exploration moléculaire des formes très rares d'infertilité masculine liée à des tératozoospermies monomorphes

Auteurs :

LEYLA OUNIS (1, 2), Abdelali Zoghmar (2), RAY PIERRE (3), Leila Rouabah (1)

1. , Laboratoire de Biologie Cellulaire et Moléculaire, université Constantine 1, Constantine, Algérie, Constantine, Algérie
2. , Clinique Ibn Rochd, Centre de PMA, Constantine, Algérie, Constantine, Algérie
3. Laboratoire de Biochimie et Génétique Moléculaire Institut de Biologie et de Pathologie CHU de Grenoble, BP 217 38043 Grenoble Cedex 9, Equipe GETI "Génétique Epigénétique et Thérapies de l'Infertilité" Laboratoire AGIM, CNRS FRE3405, Université Joseph Fourier, Grenoble, FRANCE, Grenoble, France

Mots clefs : Infertilité masculine, infertilité primaire, infertilité secondaire, spermogramme, spermocytogramme, AURKC, macrocéphalie, DPY19L2

Résumé :

Objectifs : L'infertilité masculine est une pathologie relativement fréquente dans notre pays.
cette étude a pour but de réaliser l'exploration moléculaire des formes très rares d'infertilité masculine liée à des tératozoospermies monomorphes (macrocéphalie et globozoospermie) en déterminant des mutations nouvellement décrites au niveau des gènes AURORA KINASE C et DPY19L2 respectivement et en déterminant pour la première fois la fréquence de ces anomalies rares au sein d'une population d'origine Algérienne.
Méthodes : Il s'agit d'une étude rétrospective descriptive portant sur les 404 patients orientés par leur médecin traitant pour diagnostic d'infertilité et destinés pour faire une PMA. Les paramètres épidémiologiques, cliniques et paracliniques ont été enregistrés pour chaque patient. 19 patients ayant des OAT avec des anomalies morphologiques sévères très rares (globozoospermie, macrocéphalie) ont été sélectionnés pour analyse génétique. Les 7 exons
du gène AURKC ont été amplifiés à la recherche d'une mutation au niveau d'un de ces exons
et la technique d'MLPA a été réalisée à la recherche d'une délétion du gène DPY19L2.
Résultats : Onze hommes avec macrocéphalie avaient une mutation homozygote AURKC (79%) ce qui indique que des mutations d'AURKC ont été identifiées dans 2,7% des patients avec un spermogramme anormal. Tous les hommes analysés avec globozoospermie (n = 5) ont présenté une délétion homozygote DPY19L2, ou 1,2% des hommes infertiles. Cette étude a confirmé le caractère récurrent des deux mutations AURKC et de la délétion DPY19L2 chez les hommes infertiles de l'Algérie. Nous avons observé que la macrocéphalie est 2-3 fois plus fréquente que la globozoospermie.
Conclusion : Nos résultats confirment que l'ICSI ne peut pas être efficace pour les patients atteints d'une mutation homozygote AURKC. Cela souligne l'importance du diagnostic moléculaire AURKC pour limiter les tentatives d'ICSI inutiles.

P142 : Etude comparative entre les kits de marquage d'ADN CYTAG®CGH et CYTAG®superCGH dans la détection des CNVs à partir de faibles quantité d'ADN

Auteurs :

Anne-Laure Mosca-Boidron (1), Nathalie Marle (1), Muriel Payet (2), Clémence Ragon (2), Justine Szczepaniak (2), Marlène Poulleau (2), Patrick Callier (1)

1. cytogénétique et génétique moléculaire, CHU Dijon, dijon, France
2. cytogénétique, CHU de Dijon, Dijon, France

Mots clefs : CGH-array, quantité d'ADN, marquage, DLRS

Résumé :

L'hybridation génomique comparative (CGH-array) est un puissant outil de diagnostic pour détecter les variations de nombre de copies d'ADN (CNV) au sein du génome. La détection de ces CNVs dépend de la qualité et de la quantité d'ADN notamment pour les échantillons de prénatal et d'Onco-Hématologie. Selon les recommandations de plusieurs fabricants, l'utilisation de la CGH-array en diagnostic se fait à partir d'une quantité d'ADN supérieure ou égale à 1μg. Le principe de la CGH-array est basé sur une comparaison quantitative, entre un ADN test et un ADN de référence, qui dépend de la qualité du marquage de l'ADN. Nous présentons ici un nouveau kit de marquage (CYTAG®SuperCGH labeling kit Enzo) qui permet de détecter les CNVs avec une faible quantité d'ADN inférieure à 100ng et nous le comparons avec le kit habituellement utilisé dans notre laboratoire (CYTAG®CGH Labeling kit Enzo).
La validation de la procédure de marquage a été faite en comparant ce nouveau kit avec l'ancien kit sur 7 échantillons: un cas en postnatal avec 3 quantités d'ADN différentes (90ng, 50ng and 30ng), un cas en prénatal de 90ng et trois cas de gliomes (96ng, 32ng and 8ng). L'analyse des CNVs ainsi que les contrôles qualités obtenus pour chaque échantillon ont été comparés entre les 2 kits. Les 2 kits ont permis la détection des mêmes CNVs pathogènes mais les échantillons marqués par le nouveau kit ont une meilleure DLRS et un bruit de fond plus faible. En postnatal, les DLRS obtenues sont pour 90ng: 0.14 vs 0.12; pour 50ng: 0.17 vs 0.13 et pour 30ng: 0.21 vs 0.14 avec l'ancien et le nouveau kit respectivement. En prénatal pour une quantité de 90ng la DRLS est de 0.21 vs 0.16 et avec les gliomes pour 96ng: 0.43 vs 0.34 avec 32ng: 0.26 vs 0.21. L'échantillon de 8ng a obtenu une DLRS de 0.19 avec le nouveau kit mais la comparaison n'a pas été possible avec l'ancien kit par manque d'ADN.
Les exigences de validation ont été obtenues avec succès et l'étude comparative a permis de montrer que l'efficacité du nouveau kit de marquage (CYTAG®SuperCGH labeling kit Enzo) est supérieure à l'ancien kit. Cette étude montre que ce kit est efficace pour les CGH-array réalisées en prénatal, en postnatal ainsi que sur des tumeurs. De plus nous avons montré que la détection des CNVs sur gliome était possible à partir de 8ng d'ADN. Cette technologie est donc particulièrement utile en diagnostic lorsque les échantillons sont pauvres et précieux.

P143 : Le polymorphisme C677T de la MTHFR dans les cancers digestifs et du poumon

Auteurs :

Karima Sifi (1), Sabah Hanachi (1), Khadidja Boudaoud (2), Yasmina Chafika Amrane (3), Salima Zekri (4), Taha Filalai (5), Karima Benmebarek (4), Noredine Abadi (6)

1. Laboratoire de recherche et de biologie moléculaire faculté de médecine université Salah Boubnider Constantine, CHU Ben badis de Constantine Algérie, Faculté de médecine université Salah Boubnider Constantine, Constantine, Algérie
2. Laboratoire de recherche et de biologie moléculaire faculté de médecine université Salah Boubnider Constantine,Service de radiothérapie CHU Ben badis de Constantine Algérie, Faculté de médecine université Salah Boubnider Constantine, Constantine, Algérie
3. Laboratoire d'anatomie, Faculté de médecine université 3 de constantine, CHU de Constantine, Constantine, Algérie
4. Laboratoire de recherche et de biologie moléculaire faculté de médecine université Salah Boubnider Constantine, laboratoire de biochimie CHU Ben badis de Constantine Algérie, Faculté de médecine université Salah Boubnider Constantine, Constantine, Algérie
5. service d'oncologie médicaleCHU de Constantine , Faculté de médecine université 3 de constantine, CHU de Constantine, Constantine, Algérie
6. Laboratoire de biochimie, laboratoire de recherche de biologie et de génétique moléculaire, Faculté de médecine université 3 de constantine, CHU de Constantine, Constantine, Algérie

Mots clefs : C677TMTHFR, Polymorphism, Cancers digestifs, cancer du Poumon

Résumé :

Introduction
La méthylène tétrahydrofolate réductase (MTHFR) est l'une des enzymes les plus importantes 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. 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 et de l'ARN. Ce polymorphisme est celui qui a fait l'objet du grand nombre d'étude dans le cadre de pathologies diverses dont le cancer.
Les objectifs de notre travail étaient de:
-Déterminer les fréquences alléliques et génotypiques du polymorphisme C677T de la MTHFR chez des patients présentant des cancers digestifs (gastrique et colorectal) et du poumon ainsi que chez des témoins.
-Evaluer l'effet de ce polymorphisme sur le risque de survenue de ces cancers .
Patients et méthodes
30 patients ayant présenté un cancer gastrique (CG), 52 patients ayant un cancer colorectal (CCR) , 31 patientes atteints d'un cancer du poumon (CP) et 101 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 , de 25 % et 75%, respectivement chez les patients présentant un CG et de 37,1% et 62.9%, respectivement, pour les patients présentant un CP.
Des odds ratio avec un intervalle de confiance à 95% ont été calculés afin de déterminer un lien possible entre le polymorphisme C677T de la MTHFR et la survenue des CCR, CG et CP.
Les odds ratios pour les génotypes 677T/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 (p= 0, 20) respectivement dans le CG et de 1.95 avec p= 0.69 non significatif, et 1.0819 avec p= 0.94 non significatif respectivement pour le CP.
Conclusion
Nos résultats concordent avec certaines données de la littérature.

P144 : Cancer du sein et/ou de l'ovaire familial : Evaluation du risque et test génétique BRCA.

Auteurs :

NAWAL HABAK (1), Malika Ait abdallah (1), Ammar Chikouche (1), Belaid Ait abdelkader (2), lakhdar Griene (2)

1. laboratoire de biochimie, centre pierre et marie curie, ALGER, Algérie
2. laboratoire d'hormonologie, centre pierre et marie curie, ALGER, Algérie

Mots clefs : Cancer du sein familial, BRCA1, BRCA2

Résumé :

Cancer du sein et/ou de l'ovaire familial : Evaluation du risque et test génétique BRCA

Introduction

Les familles dans lesquelles de nombreuses personnes sont atteintes de cancers du sein, d'ovaire ou d'autres cancers pourraient porter une mutation génétique qui prédispose les femmes aux cancers précoces.

Actuellement, on estime qu'au moins 10% des cancers du sein sont héréditaires et que deux gènes majeurs BRCA1 et BRCA2 sont impliqués dans cette prédisposition.

Objectif

Le but de notre étude est d'identifier les personnes pour lesquelles un test génétique BRCA est recommandé après une enquête familiale minutieuse et une évaluation du risque et de rechercher chez ces personnes la présence de mutation sur les gènes BRCA1 et BRCA2.

Matériels et méthode

254 patients ont été adressés à la consultation d'oncogénétique du Centre Pierre et Marie Curie Alger.

Nous avons réalisé pour chaque famille :

Un arbre généalogique détaillé, permettant le dépistage des facteurs familiaux, est réalisé sur 3 générations.

Ces critères n'étant pas totalement spécifiques nous les avons associés à une évaluation du risque selon le modèle Tyrer Cuzick qui associe les antécédents familiaux avec les antécédents de reproduction, la prise d'hormone, l'âge, IMC.

L'utilisation du score d'Evans qui permet d'orienter la recherche de mutation soit sur BRCA1, soit BRCA2.

Résultats

Les familles ont été classées en 3 groupes :

1er groupe : présence d'au moins 4 antécédents familiaux de cancer (sein et/ou ovaire) : 52 familles.

2^{éme} groupe : présence d'au moins 2 antécédents familiaux : 147 familles.

3^{éme} groupe : présence d'un seul cancer du sein et/ou ovaire : 55 familles.

La recherche de mutation BRCA1/BRCA2 a été réalisée chez tous les sujets du groupe1 et 9 du groupe2.

Le taux de mutation retrouve chez les 61 patients est de 49,2 % : 80% sur BRCA1 et 20% sur BRCA2.

Il faut souligner que pour les 30 patients dont une mutation BRCA a été mise en évidence, 29 appartiennent au groupe1.

Conclusion

L'identification des gènes BRCA1 et BRCA2 a été une avancée majeure dans l'estimation des risques de cancer du sein. Néanmoins, si les tests génétiques commencent à entrer dans la pratique médicale, ils ne permettent pas d'identifier toutes les femmes qui ont un risque élevé, car d'autres facteurs génétiques jouent un rôle dans le développement d'une tumeur mammaire et ne sont pas identifiés à l'heure actuelle. Le test génétique BRCA permet au clinicien, de rassurer les non porteurs de la mutation familiale et de proposer une prise en charge préventive aux familles à risque de développer un cancer du sein et/ou de l'ovaire, par des examens radiologiques (mammographie et IRM) voir chirurgicaux (mastectomie ou ovariectomie prophylactique).

P145 : Array-CGH characterization of a de novo 15q26.1q26.3 in a Moroccan girl

Auteurs :

Saadia Amasdl (1), Abdelhafid Natiq (2), Yahya Benbouchta (2), Aziza Sbiti (2), Nicole De Leeuw (3), Dominique Smeets (3), Abdelaziz Sefiani (1)

1. Centre de Génomique Humaine, Faculté de Médecine et Pharmacie, Université Mohammed V, Département de Génétique Médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Maroc
2. Département de Génétique Médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Maroc
3. Department of Human Genetics, Radboud university medical center, NIJMEGEN, Pays-Bas

Mots clefs : 15q26 deletion, Array-CGH

Résumé :

15q26 deletion is a relatively rare chromosomal disorder described only in few cases. Clinically, this condition is characterized by microcephaly, pre- and postnatal growth retardation, developmental delay, intellectual disability, dysmorphic features, epilepsy and various congenital malformations. We report here a girl, 4 years old, of consanguineous parents, with a de novo 15q26 deletion. Clinical manifestations included failure to thrive, microcephaly, dysmorphic features with broad forehead, hypertelorism, narrowed eyelid slits, protruding columelle, downturned corners of the mouth. The patient has also skeletal abnormalities, especially clinodactyly of the 5th finger, right foot varus equine, left club foot. Otherwise, she has teething delay and divergent strabismus. Paraclinical investigations showed right-to-left atrial shunting, and enlarged right heart. Conventional cytogenetics displayed a derivative 15 chromosome with an abnormally short q arm. Array comparative genomic hybridization disclosed a 9.15 Mb deletion detected in 15q26.1q26.3 band. Here we report a further case of 15q26 deletion, and we highlight the importance of array-CGH to better delineate such chromosomal abnormalities.

P146 : Impact of BRCA1 BRCT variants on cancer risk: a robust and easily implementable experimental approach

Auteurs :

Ambre Petitalot (1), Elodie Dardillac (2), Eric Jacquet (3), Naima Nhiri (3), Josée Guirouilh-Barbat (2), Patrick Julien (4), Isslam Bouazzaoui (5), Dorine Bonte (6), Jean Feunteun (6), Jeff Schnell (5), UGC Sous-groupe des laboratoires du Groupe Génétique e (7), Catherine Nogues (8), Etienne Rouleau (4), Rosette Lidereau (4), Bernard Lopez (6), Sophie Zinn-Justin (5), Sandrine CAPUTO (4)

1. Génétique, Institut Curie, paris, France
2. , CNRS UMR 8200, Gustave Roussy Cancer Institute, Université Paris-Saclay, Villejuif, France
3. , Institut de Chimie des Substances Naturelles, CNRS UPR 2301, Gif sur Yvette, France
4. Génétique, Institut Curie, Paris, France
5. Laboratoire de Biologie Structurale et Radiobiologie, IBITEC-S (CEA) & I2BC (UMR 9198, CEA, CNRS, Univ. Paris South), Gif sur Yvette, France
6. CNRS UMR 8200, Gustave Roussy Cancer Institute, Villejuif, France
7. , Unicancer, Paris, France
8. Génétique, Institut Paoli Calmettes, Marseille, France

Mots clefs : BRCA1, tests fonctionnels, variants de signification inconnue

Résumé :

BRCA1 mutations have been identified that increase the risk of developing hereditary breast/ovarian cancers. Genetic screening is now offered to patients with a family history of cancer, in order to adapt their treatment and the management of their relatives. However, a large number of *BRCA1* variants of uncertain significance (VUS) are detected. In this study we present one of the first high-throughput structural and functional analyses of a large set of *BRCA1* VUS. Information on both cellular localization and DNA-repair capacity was obtained for 78 BRCT missense variants of the French UMD-BRCA1 database and measurement of the structural stability and phosphopeptide-binding capacities was performed on 42 mutated BRCT-domains. These extensive and focused analyses revealed that most causal variants affect BRCT-domain solubility in bacteria and BRCA1 homology-directed-DNA-repair (HR) activity in cells. Moreover all characterized causal variants showed phosphopeptide-binding defects. From the analysis of causal, neutral variants as well as VUS, we could estimate the impact of the BRCT variants on cancer risk. We propose that VUS with phosphopeptide-binding defects should be systematically handled as causal variants. Moreover, phosphopeptide-binding properties of HR deficient VUS with BRCT-domains that are insoluble in bacteria should be systematically characterized, in order to further highlight the impact of these VUS on cancer risk.

P147 : Etude de COségrégation familiale des VARiants nucléotidiques (COVAR) dans les gènes BRCA1/2 pour valider leur utilisation en conseil génétique.

Auteurs :

Sandrine CAPUTO (1), Francesca Damiola (2), Mélanie Leone (3), Audrey Remenieras (4), Françoise Revillion (5), Marine GUILLAUD-BATAILLE (6), Etienne Rouleau (1), Lisa Golmard (1), Violaine Bourdon (4), Nadia Boutry-Kryza (3), UGC Sous-groupe des laboratoires du Groupe Génétique e (7), Christine Lasset (8), Olivier Caron (9), Olga SININILKOVA (10), 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. , Institut Paoli Calmettes, Marseille, France
5. , Centre Oscar Lambret, Lille, France
6. , Institut Gustave Roussy, Villejuif, France
7. , Unicancer, Paris, France
8. Département de santé publique , Centre Léon Bérard, Lyon, France
9. Consultations d'oncogénétique et du comité de Génétique , Institut Gustave Roussy, Villejuif, France
10. Unité Mixte de Génétique Constitutionnelle des Cancers Fréquents, Hospices Civils de Lyon - Centre Léon Bérard, Paris, France

Mots clefs : BRCA1, BRCA2, Variant de signification inconnue, etude de 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'un variant pathogène 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 2015, un variant pathogène, utilisable pour le conseil génétique est mis en évidence dans ~ 11% des cas index testés (chiffres INCa). 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 juin 2017, UMD-BRCA1/2 (BRCAshare) regroupe ~11000 familles pour *BRCA1* et ~13450 familles pour *BRCA2* avec 1356 VSI différents pour *BRCA1* dans 2294 familles et 2181 VSI différents pour *BRCA2* dans 4278 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 gène. 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 306 VSI pour l'étude COVAR. Depuis le début de l'étude, nous avons inclus plus de 900 individus appartenant à 339 familles à travers la France. A l'aide des informations de co-ségrégation, nous avons pu classer des variants. Par conséquent, les familles présentant ces VSI 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.

P148 : La spermFISH est-elle encore d'intérêt pour les porteurs de translocations Robertsoniennes ? Analyse méiotique de 22 patients et revue de la littérature.

Auteurs :

Guillaume Martinez (1, 2), Anna Lamotte (3), Françoise Devillard (4), Jean-Pascal HOGRAINDLEUR (2), Véronique Satre (4, 2), Charles Coutton (4, 2), Julien Bessonnat (3), James LESPINASSE (5), Mehdi Benchaib (6), Sophie Brouillet (3), Sylviane Hennebicq (3)

1. DPI Cytogénétique, CHU Grenoble-Alpes, Grenoble, France
2. Equipe GETI, Institut pour l'Avancée des Biosciences, Grenoble, France
3. UF Biologie de la procréation, CHU Grenoble-Alpes, Grenoble, France
4. UF Génétique Chromosomique, CHU Grenoble-Alpes, Grenoble, France
5. Service de génétique, CH de Chambéry, Chambéry, France
6. Centre d'AMP, CHU de Lyon, Lyon, France

Mots clefs : Translocations Robertsoniennes, spermFISH, Ségrégation méiotique, Spermatogénèse

Résumé :

Intro
Les translocations Robertsoniennes (RobT) sont des anomalies chromosomiques de structure caractérisées par la fusion de deux chromosomes acrocentriques (13, 14, 15, 21 ou 22). Avec une incidence de 1.23/1000 naissances, les porteurs présentent souvent des problèmes de fertilité, de fausses couches répétées ou de descendance avec déséquilibre chromosomique malgré une majorité de gamètes équilibrés issus du mode de ségrégation alterne. Nous avons étudié la variabilité de la ségrégation méiotique des chromosomes de 175 patients porteurs de RobT, ayant bénéficié de spermFISH et recherché des facteurs influençant les taux de ségrégation.
M&M
Etude rétrospective sur une cohorte de 22 patients analysés dans notre centre entre 2003 et 2016 et comparés aux données des 153 patients recensés dans la littérature entre 1995 et 2016.
Résultats
Conformément aux données de la littérature ($p > 0.05$ pour chaque type de translocation), le mode de ségrégation alterne est prédominant chez nos 22 patients avec une moyenne par patient de 74.03% ±7.83SE de spermatozoïdes équilibrés (min 50.92%; max 89,99%). Les taux observés pour chaque type de RobT ne sont pas différents les uns des autres ($p > 0.05$) à l'exception de la translocation rob(13;15) qui présente un taux plus faible de gamètes équilibrés (p=0,01 vs rob(13;14) et rob(14;21)). Les patients normozoospermiques présentent des taux significativement plus élevé ($p < 0.01$) de spermatozoïdes équilibrés que les patients présentant une anomalie du spermogramme, quel que soit le défaut observé.
Conclusion
La spermFISH nous fournit des informations sur la proportion de gamètes équilibrés chez les porteurs de RobT. Nos données confirment sur une grande série, que ces patients présentent des taux similaires et élevés de ségrégation équilibrée, hormis pour la translocation (13 ;15). Par ailleurs les anomalies du spermogramme sont des facteurs péjoratifs pour la ségrégation méiotique normale. Il reste donc important que l'effort global de collecte de données de ségrégation méiotique se poursuive, particulièrement pour les RobT rares et les patients à spermogramme altéré, afin d'optimiser la prise en charge et le conseil génétique de ces patients.

P149 : L'exploration de formes familiales de cancer du sein par une double approche, tumorale par puces SNP et constitutionnelle par séquençage d'exome, confirme l'implication du gène ATM dans la cancérogénèse mammaire

Auteurs :

Virginie BUBIEN (1), Françoise BONNET (1), Jennifer DUPIOT-CHIRON (1), Emmanuelle BAROUK-SIMONET (1), Natalie JONES (1), Aurélien DE REYNIES (2), Gaëtan MACGROGAN (3), Nicolas SEVENET (1), Eric LETOUZE (2), Michel LONGY (1)

1. Oncogénétique, Institut Bergonié, Bordeaux, France
2. Programme CIT, Ligue contre le cancer, Paris, France
3. Anatomopathologie, Institut Bergonié, Bordeaux, France

Mots clefs : Cancer du sein familial, ATM, puces SNP, NGS, Risque de cancer du sein

Résumé :

Introduction. 10 à 20% des cas de cancers du sein diagnostiqués sont des formes familiales mais seulement 20% d'entre elles sont expliquées par une altération constitutionnelle d'un gène de prédisposition connu tels que les gènes *BRCA1* et *BRCA2*. L'importante hétérogénéité génétique qui caractérise les familles BRCAx rend difficile la réalisation d'études familiales groupées et ne permet pas l'identification de nouveaux gènes de prédisposition au cancer du sein selon les méthodes classiques de liaison génétique ou d'association. Les techniques de séquençage de nouvelle génération (NGS) à l'échelle de l'exome ou du génome entier, autorisent en revanche l'étude de familles individuelles à la recherche de mutations constitutionnelles privées mais le nombre considérable de variants génétiques identifiés impose leur tri sur des critères de pathogénicité ou de récurrence. Un autre critère de tri peut être représenté par l'identification de régions candidates définies en fonction de réarrangements génomiques tumoraux communs à plusieurs tumeurs au sein d'une même famille. Le génotypage tumoral par puces SNP (pour *single nucleotide polymorphism*) permet en effet la détection d'haplotypes conservés dans des régions récurrentes de LOH (pour *loss of heterozygosity*) communes à plusieurs tumeurs familiales et donc l'identification de régions candidates suspectes d'abriter des mutations germinales dans des gènes de prédisposition au cancer.
Méthodes. La combinaison de ces deux approches, génotypage tumoral puis NGS, a été appliquée à une série de 17 familles avec agrégation de cancers du sein pour lesquelles au moins deux échantillons tumoraux étaient disponibles. Aucun nouveau gène de prédisposition au cancer du sein n'a été identifié mais une mutation délétère constitutionnelle du gène *ATM* a ainsi été retrouvée, associée à une perte de l'allèle sauvage dans les tumeurs d'une famille BRCAx.
Résultats. L'analyse de 17 tumeurs du sein supplémentaires provenant de 10 familles avec agrégation de cancers du sein et mutation constitutionnelle du gène *ATM* identifiée chez le cas index, a révélé que l'allèle sauvage d'*ATM* était fréquemment perdu dans ces tumeurs (>80% contre 20% attendu en situation sporadique ; $p<0.001$).
Conclusion. Ce résultat plaide fortement en faveur de l'implication d'*ATM* dans la carcinogénèse de ces cancers du sein tel un gène suppresseur de tumeur et confirme que les mutations constitutionnelles d'*ATM* sont impliquées dans des formes familiales de cancer du sein.

P150 : Découverte par Exome ciblé d'une nouvelle mutation homozygote de MCM8 chez des femmes avec insuffisance ovarienne prématurée membres d'une famille consanguine. Caractérisation fonctionnelle

Auteurs :

Nouha Bouali (1), Bruno Francou (2, 3), Jérôme Bouligand (4, 5), Dilek Imanci (5), Sarra Dimassi (6), Lucie Tosca (7), Monia Zaouali (8), Soumaya Mougou (1), Jacques Young (2, 9), Ali Saad (10), Anne Guiochon-Mantel (2, 11)

1. Laboratoire de Cytogénétique, Génétique moléculaire et Biologie de la Reproduction , CHU Farhat Hached, 4000 Sousse, Tunisie, Sousse, Tunisie
2. Inserm UMRS_1185, faculté de médecine Paris Sud, Université Paris-Sud, Université Paris Saclay, 63, rue Gabriel-Péri, 94276 Le Kremlin-Bicêtre, France, Paris, France
3. , hôpital Bicêtre, Assistance publique–Hôpitaux de Paris, 94275 Le Kremlin-Bicêtre, France, Paris, France
4. Inserm UMRS_1185, faculté de médecine Paris , Université Paris-Sud, Université Paris Saclay, 63, rue Gabriel-Péri, 94276 Le Kremlin-Bicêtre, France, Paris, France
5. Service de Génétique moléculaire, Pharmacogénétique et Hormonologie, hôpital Bicêtre, Assistance publique–Hôpitaux de Paris, 94275 Le Kremlin-Bicêtre, France, Paris, France
6. Laboratoire de Cytogénétique, Génétique moléculaire et Biologie de la Reproduction CHU Farhat Hached, 4000 Sousse, Tunisie, CHU Farhat Hached, 4000 Sousse, Tunisie, Sousse, Tunisie
7. Service d'histologie, embryologie et cytogénétique, hôpital Antoine-Béclère, France., Paris, France
8. Laboratoire de physiologie et d'exploration fonctionnelle, CHU Farhat Hached, 4000 Sousse, Tunisie, Sousse, Tunisie
9. Service d'Endocrinologie et des maladies de la Reproduction, hôpital Bicêtre, Assistance publique–Hôpitaux de Paris, 94275 Le Kremlin-Bicêtre, France, Paris, France
10. Laboratoire de Cytogénétique, Génétique moléculaire et Biologie de la Reproduction , CHU Farhat Hached, 4000 Sousse, Tunisie, Paris, France
11. Service de Génétique moléculaire, Pharmacogénétique et Hormonologie, hôpital Bicêtre, Assistance publique–Hôpitaux de Paris, 94275 Le Kremlin-Bicêtre, France, hôpital Bicêtre, Assistance publique–Hôpitaux de Paris, 94275 Le Kremlin-Bicêtre, France, Paris, France

Mots clefs : MCM8, New Generation Sequencing (NGS), Primary Ovarian Insufficiency (POI)

Résumé :

L'insuffisance ovarienne prématurée (IOP) est une déplétion folliculaire précoce survenant avant l'âge de 40 ans. L'IOP reste idiopathique dans plus de 50% des cas mais la génétique joue un rôle déterminant au plan étiologique. Nous avons utilisé le séquençage nouvelle génération (NGS) type Exome ciblé (panel de 35 gènes) afin d'identifier le gène reponsable chez 4 sœurs avec IOP issues d'une grande famille tunisienne fortement consanguine. Les données NGS ont révélé une nouvelle mutation faux sens dans le gène MCM8 (c.482A > C; p.His161Pro) qui coségrègeait avec la maladie. Les 4 sœurs atteintes étaient homozygotes et les deux parents indemnes étaient hétérozygotes pour cette mutation. Cette mutation touche un acide-aminé hautement conservé du domaine de liaison à l'ADN, côté N-terminal. L'hélicase codé par MCM8 joue un rôle important dans le déroulement des crossing-over pendant la méiose et dans la réparation par recombinaison homologue de l'ADN. Pour démontrer son caractère délétère nous avons évalué l'effet de la mutation p.His161Pro sur la capacité de réparation de l'ADN sur les lymphocytes du sang périphérique de patients mutés à l'état homozygote ou hétérozygote et exposés à une concentration croissante de mitomycine C. Nous avons observé une augmentation de l'instabilité chromosomique et un défaut significatif de réparation chromosomique dans les cellules provenant des individus homozygotes affectés par rapport à un contrôle sain. La coségrégation et la perte de fonction de MCM8 démontrent le rôle causal de cette mutation dans le phénotype IOP de cette famille et le rôle important de MCM8 dans la physiopathologie de l'IOP.

P151 : Taches café au lait chez des patients atteints de tumeurs cérébrales : NF1 ou CMMRD?

Auteurs :

Léa Guerrini-Rousseau (1), Noémie Lavoine (1), Yoan Ditchi (1), Dominique Vidaud (2), Felipe Andreiuolo (3), Pascale Varlet (3), Stéphanie Baert-Desurmont (4), Stéphanie Puget (5), Christelle Dufour (1), Jacques Grill (1), Brigitte Bressac - De Paillerets (6), Dominique Valteau-Couanet (1), Laurence Brugieres (1)

1. Oncologie de l'Enfant et de l'Adolescent, Gustave Roussy, Villejuif, France
2. Molecualr Genetics and Biology, APHP Cochin, Paris, France
3. Neuropathologie, Hôpital sainte Anne, Paris, France
4. Génétique Moléculaire, CHU Rouen, Rouen, France
5. Neurochirurgie Pédiatrique, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France
6. Biologie et pathologie Médicales, Gustave Roussy, Villejuif, France

Mots clefs : NF1, CMMRD, brain tumor, café au lait macule, predisposition

Résumé :

Background: Cafe-au-lait macules (CAL) are one of the major criteria for the diagnosis of Neurofibromatosis 1 (NF1) and Constitutional Mismatch Repair Deficiency (CMMRD) both associated with a predisposition to pediatric brain tumor. Because of overlapping phenotypes, differential diagnosis between the two syndromes may be difficult.
Patients and methods: We performed a retrospective review of all patients with a brain tumor and multiples CAL macules treated in Gustave Roussy pediatric department between 1998 and 2016. The aim of this study is to describe the clinical features of these patients. Diagnosis of NF1 was based on classical clinical criteria (NIH consensus development conference, 1987). Diagnosis of CMMRD suspected according to Wimmer's criteria led to an immunostainning (IHC) of tissue samples for MMR protein followed by guided MMR gene molecular analysis.
Results: 71 children met the inclusion criteria. Population was classified in 2 groups according to the diagnosis NF1 (n = 60) and CMMRD (n = 11).
NF1 related tumors were mostly low grade gliomas (LGG) in the optic pathway (n=54), brainstem (n=3), supra tentorial (n=3). Four high grade gliomas (HGG) were reported: 2 primary HGG and 2 secondary HGG after first LGG. For HGG, IHC of tissu samples for MMR protein was performed for 3 patients. No protein extinction was found for 2 and a loss in MSH2 protein was observed in the third one. Germline screening for MSH2 is ongoing for this patient who has a germline NF1 mutation too. Screening for NF1 germline mutation was not routinely performed. A NF1 germline mutation was identified in 18/26 (69%) patients for whom result of molecular analysis is available. In 8 patients with no identified mutation, a mosaicism may have been involved.
Diagnosis of CMMRD was suspected on the basis of Wimmer's criteria for 11 patients, mostly prospectively and retrospectively in 1 patient previously diagnosed as NF1 before 2011. A loss of expression of MMR protein was identified by IHC for all patients. The germline molecular diagnosis identified a bi-allelic mutation of PMS2 (9 patients) and MSH6 (2 patients). All the 11 CMMRD patients had 13 malignant brain tumors with a median age of 11years at diagnosis of the first brain tumor. Eight others malignancies were reported in 4 of them : hematologic malignancies (n=4), colorectal cancers (n=2) and sarcomas (n=2).
Death occurred in 9/60 (15%) of patients with NF1 and in 8/11 (73%) of patients with CMMRD. Median time between the first tumor and death was 7 and 0.8 years respectively.
Conclusion: Despite some overlapping in clinical features, CMMRD and NF1 are very different in term of tumor spectrum, incidence of malignant tumors and outcome. Diagnosis of CMMRD has clinical implications for therapy, genetic counseling and tumor screening in the patients and their relatives. Furthers studies are needed to understand the underlying cause for NF1 features in CMMRD patients.

P152 : Metalloprotéinases et cancer du nasopharynx

Auteurs :

Tesnim MAMOGHLI (1), Hayet DOUIK (1), Abir ARFAOUI (1), Arij BEN CHAABEN (1), Latifa HARZALLAH (1), Sonia ALOUI (2), Monia ELASMI (2), Fethi GUEMIRA (1)

1. Service de Biologie Clinique, Institut Salah Azaiz, Tunis, Tunisie
2. Service de Biochimie, Hôpital La Rabta, Tunis, Tunisie

Mots clefs : MMPs, genes, polymorphismes, cancer du nasopharynx, risque, pronostic

Résumé :

Le cancer du nasopharynx (CNp) se distingue des cancers des voies aériennes supérieures par sa répartition géographique singulière et sa constante liaison au virus d'Epstien Barr. Par ailleurs, les facteurs environnementaux et la composante génétique jouent un rôle additif dans l'apparition de ce cancer. En Tunisie, la majorité des patients présente un cancer de type indifférencié (UCNT) dont le tirersprésente des récidives et/ou métastases. Or, l'invasion tumorale, les métastsases et l'angiogenèse résultent d'une forte dégradation de la matrice extracellalulaire en corrélation avec l'augmentation de l'expression des métalloprotéinases (MMPs). Ces MMPs constituent une famille d'enzymes protéolytiques qui assurent collectivement la dégradation de toutes les molécules de la matrice extracellulaire (MEC) et de la membrane basale, jouant un rôle important dans le catabolisme et le remodelage de la MEC à l'état normal et pathologique.
Au cours de ce travail, nous avons ciblé les principaux polymorphismes génétiques fonctionnels de différents types de métalloprotéinases et leurs inhibiteurs, à savoir la MMP-7 (-181 A/G), MMP-1 (-1607 1G2G), MMP-2 (-1575 G/A, -1306 C/T,et -790 T/G) et TIMP-1 (rs 2070584 G/T), TIMP-2 (rs 2009195 G/C) chez des patients présentant un UCNT du cavum, comparés à des sujets sains pris comme témoins.
L'étude molécualire, après extraction de l'ADN génomique à partir de sang total, a été réalisée par les techniques de PCR-RFLP et PCR en temps réel par méthodologie Taqman chez 267 patients et 286 témoins. Le dosage des enzymes MMP-2, TIMP-1 et TIMP-2 a été effectué chez 40 patients, réprésentatifs de notre groupe de patients, par la technique ELISA type "sandwich". Les calculs statistiques ont été réalisés à l'aide du logiciel SPSS 15.0. Nos résultats ont montré que la présence des génotypes -181GG MMP-7, -1607 2G2G MMP-1 et du variant -1575 A MMP-2 constitueraient un facteur de risque dans la survenue du cancer du nasopharynx (respectivement: OR=2.5 $p < 10^{-6}$; OR= 2.18 $p < 10^{-6}$ et OR= 1.62 p=0.004). De plus, les patients génotypés -1607 2G2G MMP-1 présenteraient un risque de récidives et/ou métastases à distance (p=0.007). L'analyse multivariée de ces résultats a souligné que les facteurs de risque trouvés constitueraient des marqueurs prédictifs indépendants dans le risque de survenue du cancer du nasopharynx, le génotype -181 GG MMP-7 réprésentant le marqueur le plus décisif (OR=11.963, IC 95% [4.303-33.256] $p < 0.0001$).
Par ailleurs, nous avons trouvé une corrélation positive entre le polymorphisme -1575 G/A MMP-2 et les taux d'expression des inhibiteurs TIMP-1 et TIMP-2: le variant -1575A étant associé à une élévation des taux de TIMP-1 et TIMP-2 (p=0.025); de même le taux d'expression de MMP-2 est quasiment doublé en présence du génotype homozygote muté CC de TIMP-2 (603.55 ng/ml à 1172.45 ng/ml, p=0.016). L'expression de MMP-2 a été associée à la taille tumorale (p=0.012) et le nombre de ganglions envahis (p=0.005).

P153 : L'apport de la cytogénétique constitutionnelle et moléculaire dans le diagnostic du syndrome de Di-George 2 chez un nouveau-né présentant une dysmorphie faciale, une ambiguïté sexuelle et une cardiopathie congénitale.

Auteurs :

fatma turki (1), Hedia Ayeche (2), Afef Jelloul (3), Sonia Nouri (2), Hsan Siboui (2), Ali Saad (3), Soumaya Mougou zerelli (3)

1. laboratoire de cytogénétique et de biologie de la reproduction, CHU Farhat Hached Soussse Tunisie, sousse, Tunisie
2. Néanotologie, Hopital farhat Hached sousse, sousse, Tunisie
3. cytogenetique et biologie de la reproduction , Hopital farhat Hached sousse, sousse, Tunisie

Mots clefs : syndrome de Di-George 2, délétion 10p14, cardiopathie congénitale

Résumé :

Le syndrome de Di-George (DGS) est associé typiquement à une cardiopathie congénitale de type conotroncale, des malformations palatines, une hypocalcémie secondaire à l'agénésie ou l'hypoplasie des parathyroïdes, une agénésie thymique entrainant un déficit immunitaire et une uropathie malformative. La délétion de la région 22q11.2, cause majeure de ce syndrome, est détectable chez 85% des patients présentant le diagnostic clinique du DGS.
La délétion du chromsome10p terminale est une anomalie chromosomique rare (approximativement 50 cas rapportés). Le phénotype correspondant à cette anomalie est dans certains cas associé à celui du syndrome de Di George. Les signes cliniques incluent une cardiopathie congénitale, une déficience immunitaire des cellules T, une hyperparathyroïdie dont l'hypocalcémie, une dysmorphie faciale, un retard du développement psychomoteur, une surdité et des anomalies génitourinaires.

Dans ce travail, nous rapportons le cas d'un nouveau-né présentant un syndrome de Di- George 2 (DGS 2). Il s'agit d'un nouveau-né, de sexe féminin, issu d'un mariage consanguin. Le nouveau-né de 5 jours, a présenté un retard de croissance intra utérin, une dysmorphie faciale avec un front plat, des petites fentes palpébrales, une petite bouche avec des lèvres minces, un palais ogival et des petites oreilles mal ourlées et bas implantées. Une agénésie du pouce droit, une hypertrophie du clitoris et une malformation ano-rectale ont été notés. Une CIV non restrictive avec une petite CIA et un petit canal artériel ont été objectivées. Le bilan biologique et les échographies rénale et transfontanellaires sont sans anomalies.
Le caryotype de cette patiente a montré une délétion interstitielle en 10p14 survenue de *novo*. La FISH avec la sonde spécifique du locus *DGS2* a confirmé la délétion.

Les malformations cardiaques dans le DGS2 ont été rapportées dans 47% des cas. Sur le plan cytogénétique des délétions dans la région 22q11.2 lui ont été fréquemment associées. Un complément par CGH array est prévu afin de caractériser la délétion 10p14 et de détecter d'éventuels réarrangements cryptiques additionnels. Dans le présent cas la délétion interstitielle 10p14 est de novo, néanmoins la forme familiale secondaire à une translocation (10p ; 14q) a été décrite dans la littérature.
La FISH reste le moyen de routine le plus rapide et efficace pour le diagnostic positif, cependant la CGH array de première intention permet une cartographie des réarrangements complet et donc un conseil génétique conséquent plus précis .

P154 : La mutation germinale p.N363K de POLE semble associée à un risque majoré de cancer colorectal et de glioblastome à cellules géantes

Auteurs :

Pierre Vande Perre (1, 2), Aurore Siegfried (3), Carole Corsini (4), Delphine Bonnet (2, 5), Christine Toulas (2, 6), Thomas Filleron (7, 8), Julia Gilhodes (7, 8), Nadim Hamzaoui (9), Janick Selves (7, 3), Edith Chipoulet (2), Jean-Sébastien Hoffmann (7, 6), Emmanuelle Uro -Coste (7, 3), Rosine Guimbaud (7, 2)

1. Service de Génétique Médicale, Hôpital Purpan; CHU de Toulouse, Toulouse, France
2. Oncogénétique, Institut Claudius Regaud, IUCT-Oncopôle, Toulouse, France
3. Département de Pathologie, CHU de Toulouse, IUCT-O, Toulouse, France
4. Service d'Oncogénétique, département de Génétique Médicale, CHU de Montpellier, Montpellier, France
5. Oncologie Digestive , Pôle digestif- IUCT-Rangueil/Larrey CHU de Toulouse, Toulouse, France
6. UMR 1037, CRCT, Toulouse, France
7. Université Toulouse III , Université Paul Sabatier , Toulouse, France
8. Bureau des essais cliniques, Bio-statistique , IUCT-Oncopôle, Toulouse, France
9. Service de Biochimie et Génétique Moléculaire, Hôpital Cochin , Paris, France

Mots clefs : POLE, PPAPS, tumeur cérébrale, glioblastome, cellules géantes, cancer héréditaire

Résumé :

Prérequis : Les mutations du domaine exonucléase (fonction de correction sur épreuve, « proofreading ») de deux ADN-polymérase (*POLE* et *POLD1*) ont été impliquées dans un syndrome associant polypose adénomateuse et survenue précoce de cancer colorectal et de cancer de l'endomètre (PPAPS). Ces mutations prédisposent possiblement à des tumeurs d'autres organes ; dans ce cadre le risque d'atteinte tumorale cérébrale n'a pas été clairement décrit.
Description des patients : Nous rapportons une famille dont les membres présentent un PPAPS en lien avec une mutation *POLE* c.1089C > A; p.Asn363Lys dans le domaine exonucléase correcteur d'erreur, posant le problème d'une surincidence de glioblastomes. 10 patients ayant une histoire de cancer colorectal et 3 patients présentant une polypose sont recensés dans cette famille. Trois patients mutés (deux de la même fratrie et leur cousine éloignée) et un patient de statut *POLE* indéterminé (mais dont le père était porteur connu de la mutation) ont présenté un glioblastome à 45, 52, 30 et 37 ans respectivement. Ces 4 cas présentaient une histologie similaire de glioblastome à cellules géantes (forme rarement décrite dans les cas sporadiques de glioblastomes).
Conclusion: Il s'agit de la deuxième famille décrite pour la mutation p.N363K de *POLE***.** Dans la première (famille suédoise), un cas de glioblastome était rapporté et dans notre famille trois cas de glioblastomes sont décrits parmi des patients porteurs de la mutation familiale (et un cas chez un patient de statut génétique non déterminé).
Ainsi la mutation constitutionnelle c.1089C > A de *POLE, contrairement aux autres mutations POLE plus fréquemment identifiées dans le PPAPS,* pourrait être responsable d'un risque majoré de tumeurs cérébrales (incidence de 20% (4/20) parmi les patients mutés en combinant les deux familles). Des cas supplémentaires semblent nécessaires afin de valider cette hypothèse et le mécanisme impliquant la mutation de *POLE* dans la survenue de tumeurs cérébrale reste à préciser.
Dans l'attente, on pourrait proposer 1) une information appropriée aux familles et l'évaluation d'un dépistage et/ou suivi neurologique spécifique (en plus du dépistage digestif et gynécologique). 2) La recherche d'arguments en faveur d'un PAPPS devant tout glioblastome à cellules géantes, et 3) la discussion de l'accès précoce à un traitement par immunothérapie pour les patients atteints de glioblastome dans le cadre de ce syndrome compte tenu du caractère prédictif de réponse des tumeurs « POLE muté » (phénotype immunogène) et du peu d'efficacité des thérapeutiques actuelles.

abstract.VF_assises v2.docx

P155 : Dualité cancer du sein et grossesse : place de la consultation d'oncogénétique

Auteurs :

Tatiana KOGUT-KUBIAK (1), Marion ALVAREZ (2), Sophie BRINGER - DEUTSCH (2), Séverine GUIU (3), Pascal PUJOL (1), Isabelle COUPIER (1)

1. oncogénétique, Hôpital Arnaud de Villeneuve, MONTPELLIER, France
2. Gynécologie, Hôpital Arnaud de Villeneuve, MONTPELLIER, France
3. Oncologie, Institut du Cancer de Montpellier - Val d'Aurelle, MONTPELLIER, France

Mots clefs : cancer du sein - Grossesse - consultation d'oncogénétique - BRCA

Résumé :

Le diagnostic de cancer du sein durant la grossesse et jusqu'à un an après l'accouchement est un évènement rare et traumatisant. En France, de 10 à 39 femmes sur 100 000 naissances développent un cancer du sein pendant leur grossesse ou jusqu'à un an après leur accouchement.
A partir d'une étude rétrospective, descriptive, multicentrique sur 10 ans entre 2006 à 2016, nous nous sommes interrogés sur la place de la consultation d'oncogénétique dans ce contexte : L'indication de la consultation d'oncogénétique est-t-elle systématiquement abordée ? Est-elle réalisée pendant ou après le traitement ? Avant ou après l'accouchement ?
Notre étude a porté sur neuf patientes dont huit ont développé un cancer du sein durant la grossesse et une dans une période d'un an après l'accouchement.
Pour l'ensemble des patientes, il s'agit de grossesses obtenues spontanément. Toutes sont multipares (gestité de 3.2 (2-5) et parité de 2.4 (1-5)). Au moment du diagnostic, l'âge moyen est de 35.2 ans (31-42 ans) et l'âge gestationnel moyen est de 22SA + 5j (11-32 SA). Trois patientes soit 33.3% présentait un antécédent de cancer du sein lié au 1er degré. La consultation d'oncogénétique a été proposée à huit patientes sur neuf, sur ces huit, six ont accepté de réaliser une consultation d'oncogénétique et ont réalisé l'analyse.
Sur ces six patientes, trois sont venues chercher leur résultat elles-mêmes, une femme est porteuse d'une mutation du gène *BRCA1* et deux femmes ne sont pas porteuse de mutation délétère des gènes *BRCA1* et *BRCA2*. Une femme est décédée, son conjoint est venu chercher son résultat sur lequel une mutation délétère du gène *BRCA1* a été identifiée. Une patiente n'est pas venue chercher ses résultats et pour la dernière patiente, l'analyse est en cours.
En moyenne, le délai entre la date du diagnostic du cancer du sein et la date de la première consultation d'oncogénétique est de 2 ans et 4 mois [6 mois - 5 ans et 6 mois].
Il est satisfaisant de constater que la consultation d'oncogénétique est proposée quasi-systématiquement chez ces jeunes patientes. La majorité d'entre elles accepte l'analyse génétique. La consultation d'oncogénétique est le plus souvent réalisée à distance de la fin des traitements. Cette dualité, grossesse et cancer du sein, reste une situation rare qui nécessite une attention particulière ainsi qu'une prise en charge pluridisciplinaire.

P156 : Les duplications génomiques du gène ZNF331 soumis à empreinte maternelle comme nouvelle cause génétique de retard de croissance intra-utérin (RCIU) sévère ?

Auteurs :

Marie Bidart (1), Graciane Petre (2), Brice Poreau (3), Françoise DEVILLARD (4), Gaelle Vieville (4), Hervé Sartelet (5), François BERGER (1), Pierre-Simon JOUK (6), Florence AMBLARD (4), Véronique SATRE (4), Charles COUTTON (4)

1. UF Clinatec, Pole recherche, CHU Grenoble, Grenoble, France
2. INSERM UMR 1205, Clinatec, Grenoble, France
3. Département de Génétique et Procréation, Hôpital Couple-Enfant, CHU Grenoble Alpes, Grenoble, France
4. Laboratoire de Génétique Chromosomique, CHU Grenoble, Grenoble, France
5. Département d'Anatomie et Cytologie Pathologiques, CHU Grenoble Alpes, Grenoble, France
6. Génétique Clinique, CHU Grenoble, Grenoble, France

Mots clefs : RCIU, empreinte, ZNF331, ACPA, placenta

Résumé :

Le retard de croissance intra-utérin (RCIU) est un signe d'appel échographique observé dans environ 3 % des grossesses et ses étiologies sont multiples. Une origine génétique est retrouvée dans environ 1/3 des cas. Nous rapportons le cas d'une patiente de 41 ans dont la première grossesse est marquée par la découverte à l'échographie de 22 SA d'un RCIU. Le RCT1 est à 1/170 avec une hCG à 4,59 MoM et une PAPP-A à 4,4 MoM. Le contrôle à 25 SA retrouve un RCIU inférieur au 3ème centile avec des dopplers utérins normaux et ombilical à +2DS. Il existe une redistribution avec inversion du rapport cérébro-placentaire. La quantité de liquide amniotique est modérée. Il existe une hyperéchogénicité intestinale de grade 2 et de nombreux lacs sanguins sous-choriaux faisant évoquer une cause placentaire à ce RCIU. La sérologie CMV est négative. Les contrôles échographiques réalisés à 26 SA et 28 SA retrouvent un infléchissement de la cinétique de croissance avec tous les paramètres biométriques très inférieurs au 3ème percentile. A 29 SA on observe une MFIU. A l'examen fœto-pathologique, le fœtus pèse 460 g (<5^{ème}p) pour une taille de 30 cm (<5^{ème}p) et un périmètre crânien de 19 cm (5^{ème}p). Il n'est pas noté de variant morphologique, ni de malformations internes ou externes. L'examen anatomopathologique montre un placenta multi-fragmenté, siège de multiples infarctus anciens.
L'ACPA est réalisée à partir d'une ponction de liquide amniotique et met en évidence une duplication de 1,06 Mb en 19q13.42 héritée du père. Elle contient 27 gènes OMIM et un cluster de micro-ARNs. Parmi ces gènes, on retrouve le gène *ZNF331* soumis à empreinte maternelle. *Lambertini et al.* ont démontré que le niveau d'expression de *ZNF331* au niveau placentaire est inversement corrélé aux paramètres biométriques du fœtus.
Dans ce travail, nous montrons que l'expression de *ZNF331* est majoritairement placentaire. L'étude de la méthylation du promoteur du gène *ZNF331* par MS-MLPA chez le fœtus et son père sain met en évidence que l'allèle paternel dupliqué chez le fœtus n'est pas méthylé et exprime donc les deux copies du gène *ZNF331*. Inversement, cet allèle dupliqué est méthylé au locus *ZNF331* chez le père sain. Enfin, l'immunohistochimie anti-ZNF331 réalisée sur les coupes de placenta confirme au niveau protéique la forte expression placentaire de ZNF331 chez notre patiente comparativement à des placentas contrôles (n=3, 29-30 SA, absence de RCIU).
En conclusion, nous rapportons pour la première fois dans la littérature le cas d'un RCIU sévère causé par la sur-expression du gène *ZNF331* due à une duplication génomique 19q13.42 d'origine paternelle. Cette observation souligne l'intérêt de l'ACPA dans les RCIU sévères isolés et confirme l'importance cruciale des gènes soumis à empreinte dans le développement placentaire et fœtal.

ZNF331 Abstract Bidart et al. Assises 2018.docx

P157 : Les mutations du gène GF2 codant pour une protéine de la gaine fibreuse du spermatozoïde sont une cause récurrente d'anomalies flagellaires multiples (syndrome MMAF)

Auteurs :

Charles COUTTON (1), Guillaume MARTINEZ (2), Jean-Pascal Hograindleur (3), Pauline Le Tanno (3), Karine Pernet-Gallay (4), Raoudha Zouari (5), Thomas Karaouzène (6), Véronique SATRE (1), Christophe Arnoult (7), Pierre RAY (6)

1. Laboratoire de Génétique Chromosomique, CHU Grenoble, Grenoble, France
2. Equipe "Genetics Epigenetics and Therapies of Infertility", INSERM U823, Institut Albert Bonniot, Grenoble, France
3. Equipe "Genetics Epigenetics and Therapies of Infertility INSERM 1209, CNRS UMR 5309, Institute for Advanced Biosciences, Grenoble, France
4. NSERM, U836, Grenoble Institute of Neuroscience, Grenoble, France
5. Clinique des Jasmin, Clinique des Jasmin, Tunis, Tunisie
6. UF de Biochimie Génétique et Moléculaire, CHU Grenoble, Grenoble, France
7. Equipe , Institut Albert Bonniot, Grenoble, France

Mots clefs : infertilité masculine, génétique, MMAF, flagelles, gaine fibreuse, exomes, AKAP4

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 ANR «MAS FLAGELLA» nous avons constitué une cohorte de 78 patients présentant une infertilité primaire liée à par des anomalies morphologiques multiples des flagelles (MMAF). Précédemment, nous avons pu mettre en évidence des mutations dans 3 gènes codant pour des protéines axonémales du flagelle du spermatozoïde *DNAH1*, *CFAP43* et *CFAP44* chez environ 30% des patients MMAF. Ces résultats suggèrent qu'environ 70% des patients restant sont porteurs de mutations dans d'autres gènes.
Un séquençage exomique complet (WES) de notre cohorte a été réalisé. Après mise en place d'un pipeline bio-informatique spécifique, nous avons pu identifier 4 patients non apparentés (5,1%) avec une mutation tronquante (ins/del) homozygote dans le gène *GF2*. Toutes ces mutations ont été confirmées en Sanger et n'ont jamais été décrite dans les bases de bases de données publiques de polymorphismes (dbSNP, gnomAD). Le gène *GF2* code pour une protéine de la gaine fibreuse des flagelles du spermatozoïde et nos données de RT-qPCR montrent que son expression est spécifique au testicule.
Au sein de la gaine fibreuse du flagelle, qui correspond à une structure riche en protéines enveloppant l'axonème et les fibres denses uniquement au niveau de la pièce principale du flagelle, la protéine *GF2* interagit directement avec la protéine AKAP4 (Kinase Anchoring Protein). Les analyses par immunofluorescence avec un anti-AKAP4 sur des spermatozoïdes de nos 4 patients mutés dans *GF2* montrent une disparition complète du signal. Inversement, le marquage AKAP4 persiste dans le flagelle des spermatozoïdes des patients mutés dans les gènes *DNAH1*, *CFAP43* et *CFAP44*. Ces données démontrent que les mutations dans le gène *GF2* entrainent spécifiquement la perte de protéines partenaires de la gaine fibreuse comme AKAP4. La protéine AKAP4 représente la protéine le plus abondante de la gaine fibreuse et est impliquée dans le processus d'assemblage de la gaine. Il a été démontré que les souris KO pour le gène *Akap4* présentent des anomalies morphologiques sévères du flagelle du spermatozoïde semblables à celles observées chez nos patients. Des analyses de microscopie électronique ont pu être réalisées chez un nos patients mutés dans *GF2* et montrent une désorganisation générale et sévère de la gaine fibreuse mais aussi de l'axonème.
Au final, nous avons pu mettre en évidence pour la première fois des mutations pathogènes dans un gène codant pour une protéine de la gaine fibreuse chez des patients MMAF. Ces données démontrent que les mutations dans *GF2* entrainent la perte de la protéine AKAP4. Ce travail confirme le rôle structural essentiel des protéines de la gaine fibreuse comme GF2 ou AKPA4 dans la biogénèse du flagelle du spermatozoïde.

FSIP2 abstract Coutton et al Assises 2018.docx

P158 : le syndrome à12 cas de prader willi diagnostiqués dans le laboratoire du cytogénétique du cpmc alger

Auteurs :

BELAID AIT ABDELKADER (1), MERIEM AMINA GHOUALI (2), AMMAR CHIKOUCHE (3)

1. Laboratoire de cytogénétique constitutionnelle du centre Pierre et Marie Curie Alger., CHU Centre pierre et marie curie , ALGER, Algérie
2. Array, Array, Array, France
3. laboratoire de boichimie , CHU Centre pierre et marie curie , Alger, Algérie

Mots clefs : caryotype, fish , acpa, biologie moleculaire

Résumé :

Le syndrome de Prader-Willi (SPW) est une maladie génétique rare, qui se caractérise par un dysfonctionnement hypothalamohypophysaire associé à une hypotonie majeure pendant la période néonatale et les deux premières années de vie ; puis de l'enfance à l'âge adulte, les problèmes principaux sont l'apparition d'une hyperphagie avec le risque d'obésité morbide, des difficultés d'apprentissage et des troubles du comportement, voire des troubles psychiatriques majeurs. Il est dû à une anomalie du chromosome 15 et concerne un cas sur 25 000 naissances. À la naissance, ces enfants présentent une hypotonie particulièrement sévère qui s'améliore partiellement. Elle explique les troubles de la succion déglutition et le décalage des acquisitions. Il existe également un syndrome dysmorphique discret mais constant, au niveau de la face associé à des extrémités petites. Dès l'âge de deux ans, il y a un risque d'installation d'une obésité sévère, due à une absence de satiété avec une hyperphagie qui s'aggrave rapidement et qui explique une grande partie de la morbidité et de la mortalité de ces patients. On observe des anomalies hypothalamohypophysaires, associant un retard statural dû à un déficit en hormone de croissance et un développement pubertaire incomplet. Le déficit intellectuel est rarement majeur et est extrêmement variable d'un enfant à l'autre. Il est associé à des difficultés d'apprentissage et d'expression orale majorées par les troubles psychologiques et comportementaux quand ils sont présents. Il s'agit d'une affection très hétérogène sur le plan clinique et génétique. Il y a aujourd'hui un consensus parmi les experts sur le fait que la suspicion diagnostique de la maladie est clinique (critères d'Holm et al. de 1993, revus en 2001) et sa confirmation génétique. Ces anomalies génétiques sont souvent accidentelles et sporadiques et les cas familiaux sont très rares, ce qu'il faut expliquer aux couples concernés, au cours d'une consultation de génétique. Il est nécessaire de mettre en place une prise en charge globale et multidisciplinaire. douzes patients presentant un syndrome de prader willi ont été diagnostiques au niveaux de notre laboratoire par des technique de cytogénétique moléculaire et des techniques de biologie moléculaire .

P159 : tétrasomie 18p à propos de cinq cas diagnostiques au niveau du laboratoire cytogénétique du CPMC Alger

Auteurs :

OUIDAD FADEL (1), BELAID AIT ABDELKADER (2)

1. , CPMC, ALGER, France
2. Laboratoire de cytogénétique constitutionnelle du centre Pierre et Marie Curie Alger., CHU Centre pierre et marie curie , ALGER, Algérie

Mots clefs : caryotype, fish

Résumé :

La tétrasomie 18p est une anomalie chromosomique structurale caractérisée par un déficit intellectuel modéré à sévère, un retard de croissance pré et postnatal, des signes pyramidaux, une dysmorphie crânienne particulière et des malformations rénales. La prévalence dans la population générale d'Europe a été estimée à 1 sur 180 000. L'anomalie chromosomique consiste en un isochromosome 18p supplémentaire résultant de la duplication du bras court de l'un des chromosomes 18 (i(18p)). Le diagnostic repose sur le caryotype des lymphocytes sanguins de cinq enfants présentant des signes cliniques évocateurs d'une anomalie chromosomique.. Les techniques classiques de marquage en bandes révèlent un chromosome métacentrique supplémentaire, avec deux bras identiques. Les signaux d'hybridation du chromosome 18 en utilisant la sonde centomerique du chromosome 18 montres l'existance de trois signaux confirmant ainsi que le chromosome surnuméraire est bien un chromosome 18, puis nous avons utilisé la sonde telomerique du bras cours du chromosome 18 et nous avons retouvé quatres signaux , ce qui nous a conduit à poser le diagnostique de tétrasomie 18p chez les cinq patients .

P160 : une translocation inhabituelle t(9;22)(p23~21.3;q11) chez un patient Marocain avec suspicion de leucémie myéloide chronique

Auteurs :

Yassamine Doubaj (1, 2), Maryem Sahli (2), Maria Zerkaoui (1), Majdouline Bouaouad (3), Zoubida Mzelek Tazi (3), Abdelhafid Natiq (2), Aziza Sbiti (2), Thomas Liehr (4), Othman Moneeb (5), Abdelaziz Sefiani (2, 1)

1. Centre de Génomique Humaine, Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rabat, Université Mohammed V, Rabat, Rabat, Maroc
2. Département de Génétique Médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Maroc
3. Service de Médecine interne, CHU Rabat-Salé, Rabat, Maroc
4. Institut de Génétique Humaine , Hôpital Universitaire de Jena, Jena, Allemagne
5. Institut de Génétique Humaine , Hôpital Universitaire de Jena, Jenna, Allemagne

Mots clefs : t(9;22), 9p arm, 22q arm, myeloproliferative neoplasm, chronic myeloid leukemia

Résumé :

The diagnosis of typical chronic myeloid leukemia (CML) is defined mainly by the presence of BCR-Abl1 rearrangement encoding a chimeric protein with a very high tyrosine kinase activity responsible of white blood cell proliferation. The hematologic karyotype is the first genetic analysis realized in patient with suspected CML to confirm the diagnosis by the presence of the Philadelphia chromosome resulting from a reciprocal translocation between the long arms of the chromosomes 9 and the 22. Variants of the Philadelphia translocation and complex translocations involving BCR have been reported in myeloproliferative disorders. A rare translocation, t(9;22)(p24;q11.2), resulting in a novel *BCR-JAK2* fusion has been reported in a handful of cases of CML and acute myelogenous leukemia (AML)
Hereby, we present a case with suspicion of chronic myeloid leukemia based on clinical and biological findings. The medullar karyotype revealed an unusual translocation t(9;22) involving the p arm of chromosome 9 and the q arm of chromosome 22. The presence of BCR-Abl rearrangement was completely excluded by interphase fluorescence-in-situ hybridization revealing the absence of Bcr-Abl fusion signal and by RT-PCR with none of the transcripts (M,m and u) have been found. To better characterize the translocation, we complete the molecular cytogenetic study and the breakpoints seemed to be at band p23~21.3 on the chromosome 9 and the at band q12 on the chromosome 22 and the *BCR-Jak2* rearrangement was excluded.
More molecular investigations are needed to better characterize the genes implicated in the rearrangement described in order to define the molecular pathway responsible of the biological phenotype in our patient.

Abstract assises YD.docx

P161 : CALR gene mutational profile in myeloproliferative neoplasms with non-mutated JAK2 in Moroccan patients: A case series and germline in-frame deletion

Auteurs :

Fatima Zahra LAARABI (1), Wiam Smaili (2, 3), Yassamine DOUBAJ (1), Jaber Lyahyai (2), Malika Kerbout (4), Mohamed Mikdame (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 de Pharmacie- Université Mohamed V- Souissi,Rabat, Maroc, Rabat, Maroc
3. Département de Génétique Médicale, Institut National d'Hygiène – Rabat, Maroc, Rabat, Maroc
4. Service d'hématologie clinique, Hopital militaire d'instruction Mohammed V- Université Mohamed V- Rabat, Maroc, Rabat, Maroc

Mots clefs : CALR, In frame deletion, Morocco, Myeloproliferative neoplasms

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 (MPN). In fact, exome sequencing revealed that most patients with essential thrombocythemia (ET) or primary myelofibrosis (PMF) lacking JAK2 or MPL mutations, harbor somatic insertion and/or deletion in exon 9 of CALR gene. In this study, we identified the first CALR gene mutational landscape in Moroccan patients with MPN nonmutated for the JAK2 gene.
METHODS:
We performed Sanger sequencing of exon 9 of CALR gene in blood samples obtained from 33 Moroccan patients with ET or PMF non-mutated for JAK2.
RESULTS:
Of the 33 patients analyzed, we detected eight distinct variants in 15 patients (45.4%); six indel mutations, five with type 1 recurrent 52bp deletion, four with type 2 recurrent 5bp insertion and one in frame deletion which was found to be a germline variant suggesting a very rare condition in MPN.
CONCLUSION:
This is the first cohort reported in CALR gene mutation analysis in Morocco. Our results were concordant with studies reported up to date and very encouraging in promoting the molecular diagnosis of myeloproliferative neoplasms in Moroccan patients. Moreover, the presence of a germline in frame deletion in a symptomatic patient should undermine the effectiveness of sizing assays without DNA sequencing in the diagnosis of CALR mutations.

P162 : Etude de l'implication de mutations activatrices du gène GCM2 dans les hyperparathyroïdies primaires familiales

Auteurs :

Lucie COPPIN (1), Margaux DUFOSSE (1), Emilie AIT YAHYA (2), Julie LECLERC (1), Catherine CARDOT BAUTERS (3), Nicole PORCHET (4), Marie-Françoise ODOU (4)

1. Service de Biochimie et Biologie Moléculaire HMNO ; Pôle de Biologie Pathologie Génétique, CHU Lille - Université de Lille, LILLE, France
2. Plateau Commun de Biologie Moléculaire ; Pôle de Biologie Pathologie Génétique, CHU Lille, LILLE, France
3. Service d'endocrinologie, diabétologie et métabolisme, CHU Lille, LILLE, France
4. Service de Biochimie et Biologie Moléculaire HMNO ; Pôle de Biologie Pathologie Génétique, CHRU de Lille - Université de Lille, LILLE, France

Mots clefs : GCM2, hyperparathyroïdie primaire familiale, Next Generation Sequencing

Résumé :

L'hyperparathyroïdie primaire est une affection fréquente causée par une hypersécrétion des glandes parathyroïdiennes. Dans 5 à 15% des cas, elle peut être héréditaire et se présenter sous forme isolée ou associée à d'autres atteintes syndromiques. Ainsi elle peut être liée à des mutations constitutionnelles de gènes tels que *MEN1* (NM_130799), *CDC73 = HRPT2* (NM_024529), *RET* (NM_020975), *CDKN1B* (NM_004064) mais également *CASR* (NM_00388), *GNA11* (NM_002067) et *AP2S1*(NM_004069). Malgré l'étude de ces différents gènes, certaines situations familiales restent négatives, laissant suppposer entre autres l'implication d'autres gènes. En 2016, Agarwal et coll. ont réalisé une analyse d'exomes chez 40 familles non apparentées atteintes d'hyperparathyroidie primaire familiale isolée (FIHP) pour identifier de nouveaux gènes potentiellement associés à la FIHP. Le gène *GCM2* (NM_004752) est apparu comme un candidat potentiel, avec 10 variants identifiés dont certains ont été caractérisés sur le plan fonctionnel comme étant transactivateurs. D'un point de vue fonctionnel, GCM2 est un facteur de transcription presque exclusivement exprimé dans les glandes parathyroïdiennes ; c'est un régulateur important du développement des parathyroïdes et des mutations germinales inactivatrices du gène *GCM2* sont connues comme responsables d'hypoparathyroïdies familiales. Le panel Haloplex° « tumeurs endocrines » développé au laboratoire pour l'analyse des tumeurs endocrines d'origine génétique et analysé sur séquenceur Miseq Illumina° comporte 21 gènes parmi lesquels les gènes précedemment cités impliqués dans les hyperparathyroïdies primaires familiales ainsi que le gène *GCM2*. Nous avons donc effectué une analyse rétrospective des variants du gène *GCM2* pour l'ensemble des patients analysés par notre panel, soit environ 600 patients. 412 variants de *GCM2* ont ainsi été répertoriés dont des variants situés en région 3'UTR et des variants sans doute artéfactuels non confirmés en séquençage Sanger. 18 variants ont finalement été retenus et classés en fonction des critères proposés par Richards et al. (recommandations de l'American College of Medical Genetics) : 11 ont été classés comme bénins ou probablement bénins, 5 comme variants de signification inconnue et 2 comme probablement pathogènes. L'un des deux variants classé comme probablement pathogène a été retrouvé chez 22 patients, considéré comme pouvant contribuer à l'hyperparthyroïdie primaire, sans forcément être le seul élément responsable. Ce travail confirme l'intérêt de l'analyse du gène *GCM2* en complément des autres gènes impliqués dans les hyperparathyroïdies primaires familiales et souligne la notion d'origine multi-factorielle possible de l'hyperparathyroïdie primaire famililale . Le développement de tests fonctionnels apparait comme un élément important pour interprêter l'impact de ces variants et identifier des régions directement impliquées dans le rôle de transactivation de ce facteur.

P163 : Caractérisation moléculaire des sous-types rares de tumeurs rénales et recherche de prédisposition génétique

Auteurs :

Déborah Jakubowicz (1), Annabelle Venisse (2), Virginie Verkarre (3, 1), Thomas Denize (4), Lauriane Chambolle (5), Laurène Ben Aïm (1, 2), Karine Auribault (2), Ivana Stankovic (3), Cécile Badoual (5, 1), Arnaud Méjean (6, 7), Marc-Olivier Timsit (6, 7), Anne-Paule Gimenez-Roqueplo (1, 2), Nelly Burnichon (1, 2)

1. INSERM UMR970, Paris Centre de Recherche Cardiovasculaire, Paris, France
2. Service de Génétique, Hôpital européen Georges Pompidou, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Paris, France
3. Service d'anatomie pathologique, Hôpital européen Georges Pompidou, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Paris, France
4. Service d'anatomie pathologique, Hôpital Necker Enfants Malades, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Paris, France
5. Tumorothèque et Plateforme de ressources Biologiques BB-0033-00063, Hôpital européen Georges Pompidou, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Paris, France
6. Service d'urologie, Hôpital européen Georges Pompidou, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Paris, France
7. Faculté de médecine, Université Paris Descartes, Paris, France

Mots clefs : tumeurs rares, cancer du rein, oncogénétique, séquençage nouvelle génération

Résumé :

Introduction
Le cancer du rein est le 7e cancer le plus fréquent en France avec environ 5% de formes héréditaires. Il regroupe plusieurs entités de nature et d'évolution différentes, dont de nombreux sous-types histologiques rares, mal caractérisés sur le plan génétique. Nous avons développé un panel NGS ciblé innovant, permettant un génotypage constitutionnel et tumoral sans *a priori* et rapide. Les objectifs étaient d'évaluer, pour chaque sous-type, la prévalence réelle des mutations de l'ensemble des gènes prédisposant au cancer du rein et d'identifier de nouveaux biomarqueurs diagnostiques et pronostiques.

Matériel et méthodes
Nous avons conçu et mis au point un panel de type TruSeq Custom Amplicon Low Input sur séquenceur MiSeq (Illumina) permettant le génotypage de 28 gènes majeurs impliqués dans la tumorigenèse rénale, utilisable sur ADN constitutionnel et tumoral, y compris extrait à partir de tissu inclus en paraffine (FFPE).
Nous avons extrait les ADNs de 36 tumeurs opérées à l'hôpital européen Georges Pompidou et à l'hôpital Necker (Paris), issues de 33 patients vus en consultation d'oncogénétique pour une forme rare de tumeurs rénales et/ou une forme clinique susceptible d'être génétiquement déterminée.
Parmi les tumeurs analysées, nous comptions 11 carcinomes à cellules claires, 8 carcinomes chromophobes, 3 oncocytomes, 6 carcinomes tubulo-papillaires type 1, 5 carcinomes tubulo-papillaires non type 1, 2 angiomyolipomes et un carcinome rénal éosinophile solide et kystique. Le suivi médian des patients était de 20,6 mois [0-196]. Pour chaque patient, l'ADN leucocytaire était analysé en parallèle sur le même panel.

Résultats
Au niveau tumoral, nous avons identifié 19 mutations et 17 variations de signification indéterminée (VSI). Les mutations ont été retrouvées le plus fréquemment sur les gènes *VHL* (n=8) et le promoteur de *TERT* (n=3) puis sur les gènes *TSC2*, *BAP1*, *FLCN*, *TP53*, *PBRM1*, *SDHA* et *TSC1*. Parmi ces 36 variations, 7 ont été retrouvées au niveau constitutionnel, situées sur les gènes *SDHA, FLCN*, *PBRM1*, *SMARCB1,TSC2* et *VHL*. Les analyses immunohistochimiques qui permettront de confirmer leur causalité sont en cours.

Conclusion
Nous avons développé et validé en routine un outil NGS capable d'analyser les 28 gènes les plus fréquemment impliqués dans la tumorigénèse rénale, aussi bien sur ADNs leucocytaires que tumoraux. Cette étude confirme le rôle majeur des mutations du gène *VHL*, notamment dans les ccRCC du sujet jeune mais également dans d'autres sous-types. Les mutations du promoteur *TERT*, facteurs de mauvais pronostic, suggèrent l'importance d'un suivi accru des patients concernés. La fonctionnalité des variations constitutionnelles identifiées devra être définie, et le conseil génétique adapté en conséquence. L'étude d'une plus grande cohorte permettra de préciser les profils mutationnels des sous-types rares et d'identifier de potentiels biomarqueurs ainsi que l'incidence des formes héréditaires de la maladie.

P164 : Recherche des mutations BRCA1/2 par séquençage nouvelle génération : à propos de 40 patientes marocaines

Auteurs :

Siham Chafai Elalaoui (1), Abdelali Zrhidri (2), jaber Lyahyai (3), Fatima Zohra Laarabi (4), najlae addadi (5), 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. Centre de Génomique Humaine, , Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université Mohammed V, Rabat, Maroc, rabat, Maroc
3. 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
4. 2 Département de Génétique Médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Morocco., 2 Département de Génétique Médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Morocco., rabat, Maroc
5. Centre de génomique humaine, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université Mohammed V Souissi, Rabat, Morocco. , Centre de génomique humaine, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université Mohammed V Souissi, Rabat, Morocco. , rabat, Maroc

Mots clefs : cancer du sein, cancer ovaire, BRCA1, BRCA2, séquençage nouvelle génération.

Résumé :

Le cancer du sein est le cancer le plus fréquent chez la femme. Il est dans la majorité des cas sporadique, mais dans de rares cas il existe une prédisposition héréditaire du cancer du sein et/ou de l'ovaire. Les mutations germinales des gènes *BRCA1* ou *BRCA2* sont à l'origine de cette prédisposition héréditaire. Ces gènes sont grande taille et ne représentent pas de hotspot particulier, ci qui rend leur analyse lourde et onéreuse.
L'évolution des technologies de séquençage haut débit permet désormais de passer d'une stratégie d'analyse «exon par exon» à l'analyse simultanée d'un panel de gènes pour chaque patient.
Nous rapportons dans ce travail, notre série de 40 patientes ayant un cancer du sein et/ou de l'ovaire familial, l'analyse par panel, avec le système Ion PGM, en utilisant l'Oncomine *BRCA1/2* research Panel de Ion AmpliSeq) a été effectué. Des mutations ont été identifiées chez 10 patientes sur 40. Cinq mutations au niveau du gène *BRCA1* et cinq mutations au niveau du gène *BRCA2.*
A travers ce travail, nous insistons sur l'importance de la recherche des mutations *BRCA1* et *BRCA2* par NGS. Ce diagnostic permettra aux patientes une prise en charge et suivi plus adaptés et un diagnostic pré-symptomatique chez leurs apparentés.

P165 : Gestion des demandes de consultation : retour d'expérience rennaise au Centre Eugène Marquis (CEM)

Auteurs :

Vanessa COLOMBERT (1, 2), Louise CRIVELLI (1, 2), Brivael GERY (2, 1), Philippe DENIZEAU (2, 1), Samuel LE SOURD (1)

1. Oncologie génétique, Centre Eugène Marquis, RENNES, France
2. Service de Génétique Clinique, CHU de Rennes, RENNES, France

Résumé :

Les services d'oncogénétique doivent faire face à une demande croissante de consultations tout en assurant des délais rapides pour des indications théragnostiques. Ces évolutions incitent les consultants, aux profils divers, à adapter leur pratique.
Devant cette problématique, pour toute demande de consultation concernant un patient ou une famille qui n'a jamais bénéficié d'une consultation d'oncogénétique, nous demandons au médecin (généraliste ou spécialiste) de nous adresser une demande écrite. Ces demandes sont systématiquement étudiées en équipe, permettant de dissocier les patients à voir (avec ou sans urgence) des patients dont l'histoire personnelle et familiale n'est pas évocatrice d'une prédisposition héréditaire au cancer (PHAC).
Nous faisons aujourd'hui le point sur 7 mois d'utilisation de ce procédé. Sur cette période, nous avons reçu 503 demandes au CEM:
-339 patients ont été convoqués d'emblée (67,4%),
-98 demandes relevaient d'histoire personnelle et/ou familiale non évocatrice d'une PHAC et ont donné suite à un avis (19,4%),
-66 demandes étaient discutables (13,1%). Dans ce cas, un questionnaire a été adressé au patient afin de préciser sa structure familiale et ses antécédents.
Sur ces 66 questionnaires, nous avons obtenu un retour de 35 familles (soit 53%).
Parmi ces 35 dossiers, nous avons après réévalutation:
-9 familles pour lesquelles les antécédents sont évocateurs de PHAC (4 familles pour lesquelles le meilleur cas index est la personne pour laquelle un avis avait été initialement demandé, 5 pour lesquelles le meilleur cas index est un apparenté),
-17 familles dont l'histoire n'est pas évocatrice d'une PHAC,
-7 familles pour lesquelles nous attendons des compléments d'information avant de statuer.
Au total, ce procédé a permis de maintenir un délai de consultation raisonnable. En effet, sur une période de 7 mois, nous avons évité 115 consultations de nouvelle famille (23% des demandes), soit un gain d'environ 2 mois en termes de délai de consultation de ce type. Nos délais de consultation, or circuit rapide, sont actuellement <2 mois pour les PHAC digestifs, <3 mois pour les syndromes rares et <5 mois pour les PHAC du spectre sein/ovaire au CEM.
Néanmoins, cette organisation est assez chronophage (environ 1h par dossier pour lequel un questionnaire est envoyé) et mène à de nombreux avis écrits. Or, cette activité n'est pas valorisée en termes de cotation.
De plus, nous observons un retour assez mitigé. Seuls 53% des questionnaires nous sont retournés. Nous avons pour le moment décidé de ne pas relancer les familles qui ne nous ont pas répondu.
En conclusion, cette organisation de service permet une répartition cohérente et fluide des consultations. Nous avons répondu à notre problématique de départ qui était d'assurer un circuit rapide pour les demandes urgentes et d'orienter les patients vers le bon interlocuteur. Néanmoins, nous devons probablement perfectionner ce procédé afin d'obtenir un meilleur retour de la part des patients.

P166 : Statut her2-equivoque dans les carcinomes canalaires infiltrants: entre nouvelles recommandations et stratégies d'analyse

Auteurs :

Fatoumata Simaga (1), Carine Ngo (1), Edith Borcoman (2), Laetitia Fuhrmann (1), Odette Mariani (1), Emmanuelle Jeannot (1), Marick Laé (1), Jean-Yves Pierga (2), Anne Vincent-Salomon (1), Gaelle Pierron (1)

1. Département de Pathologie, Institut Curie, Paris, France
2. Département d'Oncologie, Institut Curie, Paris, France

Mots clefs : carcinome canalaire infiltrant, ASCO (American Society of Clinical Oncology) / CAP (College of American Pathologists), IHC, FISH, statut HER2 équivoque, CGHa

Résumé :

HER2 (Récepteur 2 du facteur de croissance épidermique humain) est un oncogène dont le gain de fonction est un mécanisme majeur d'oncogenèse. Il peut être déterminé au niveau protéique en évaluant la surexpression de la protéine (IHC), au niveau génique en recherchant une amplification du locus contenant HER2 (FISH), ou au niveau génomique (CGHa).
Chez les femmes présentant un carcinome canalaire infiltrant du sein (CCI), le statut amplifié ou non, d'HER2 est associé à la qualité de la réponse à la thérapie anti-HER2 et détermine donc l'éligibilité de ces patientes à cette thérapie ciblée.
Actuellement à l'Institut Curie, la stratégie analytique est basée sur l'immuno-histochimie (IHC) en première intention. Les tumeurs sont classées en fonction de l'intensité de leur marquage par l'anticorps anti-Her2 (0 négatif ; 1+ faible ; 2+ intermédiaire ; 3+ fort) seuls les cas 3+ sont éligibles d'emblée. Lorsque le score est 2+, une FISH est réalisée en 2ème intention et permet d'identifier 3 catégories : non amplifiée, amplifiée et «HER2-équivoque». Pour ce dernier groupe, dont les résultats de FISH ne permettent pas de conclure sur le caractère amplifié ou non du locus HER2, une CGHa est réalisée en 3ème intention.
Dans ce contexte, nous avons cherché à évaluer les nouvelles recommandations internationales sur le statut du gène HER2 dans les cancers du sein établies par l'ASCO/CAP. Une analyse a été menée sur une cohorte rétrospective (2008 à 2014) de 1972 CCI présentant un score 2+ en IHC. La détermination par FISH de leur statut HER2 avait été réalisée selon les recommandations de 2007 et a été réévaluée. Pour 74 cas présentant un statut FISH «HER2 équivoque» de la tumeur congelée était disponible et a permis de réaliser une CGHa.
1937 cas de cette cohorte ont eu une FISH HER2 interprétable. Ainsi, 143 cas parmi les 1937 cas analysés par FISH ont changé de statut HER2. Parmi ces 143 cas, nous avons identifié 121 nouveaux cas HER2 équivoques, qui correspond à une augmentation de 0,8% à 6%. L'analyse par CGHa montre que ce statut équivoque est associé pour 33 cas (45%) à un gain large du chromosome 17, pour 15 cas (20%) à un gain segmentaire contenant HER2, pour 16 cas (22%) il n'y avait pas d'altération du nombre de copies au niveau du locus HER2, 1 cas (1%) avec une perte totale du chromosome 17 contenant donc HER2, et que seuls 9 cas (12%) présentent une réelle amplification de HER2.
Les nouvelles recommandations (ASCO 2013) augmentent le nombre de résultats équivoques. Au niveau génomique, ces cas correspondent en majorité à une polysomie du chromosome 17 et/ou à un gain segmentaire contenant HER2. La CGHa a donc permis à la fois de reclasser les cas HER2-équivoque en statut non amplifié et de confirmer les réelles amplifications focales. Compléter la stratégie d'évaluation du statut d'HER2 par une technique pan-génomique globale, comme la CGHa, permet donc d'optimiser les étapes de sélection des patientes éligibles à une thérapie ciblée anti-HER2.

P167 : Remaniement complexe ou chromoanagenesis ? A propos de la caractérisation moléculaire d'une délétion du bras court du chromosome 2.

Auteurs :

Pauline Monin (1), Flavie Diguet (2), Marie-Pierre Cordier (3), Linda Pons (3), Pierre-Antoine Rollat-Farnier (4, 5), Nicolas Chatron (2), Patrick Edery (6), Damien Sanlaville (2), Caroline Schluth-Bolard (2)

1. Service de Génétique, Laboratoire de Cytogénétique Constitutionnelle, Hospices Civils de Lyon, Bron, France
2. Service de Génétique, Laboratoire de Cytogénétique Constitutionnelle, CBPE, Hospices Civils de Lyon, Centre de Recherche en Neurosciences de Lyon, INSERM U1028 ; CNRS UMR5292 ; UCBL1 ; GENDEV Team , Bron, France
3. Service de Génétique, Unité de Génétique Clinique, Hospices Civils de Lyon, Bron, France
4. Service de Génétique, Laboratoire de Cytogénétique Constitutionnelle, Centre de Biologie et de Pathologie Est, Hospices Civils de Lyon, Bron, France
5. Cellule bio-informatique de la plateforme NGS, Hospices Civils de Lyon, Bron, France
6. Service de Génétique, Unité de Génétique Clinique, Hospices Civils de Lyon, Centre de Recherche en Neurosciences de Lyon, INSERM U1028 ; CNRS UMR5292 ; UCBL1 ; GENDEV Team , Bron, France

Mots clefs : séquençage génome entier, délétion 2p12, chromothripsis, remaniement chromosomique complexe

Résumé :

Les remaniements chromosomiques complexes sont des anomalies de structure initialement définies par la présence d'au moins 3 points de cassures, sur au moins 2 chromosomes. Plus récemment ont été décrits les chromoanagenesis : des remaniements d'une particulière complexité, qui apparaissent comme l'éclatement suivi de la reconstitution d'un chromosome, pouvant atteindre une centaine de points de cassure.
Nous présentons le cas d'un enfant adressé à l'âge de 15 mois et demi pour une déficience intellectuelle associant un retard psychomoteur global, un retard de langage, une hypertonie segmentaire, des troubles du comportement (colères, réveils nocturnes) et une dysmorphie faciale discrète.
Une analyse chromosomique sur puce à ADN (ACPA, 180K, Agilent) a mis en évidence la présence de deux délétions sur le chromosome 2 : une délétion de 950 kb en 2p13.2 emportant 3 gènes impliqués en pathologie humaine dont le gène *EXOC6B* (déficience intellectuelle syndromique avec troubles du comportement et épilepsie) ; et une deuxième délétion d'environ 11 Mb en 2p12p11.2. Cette deuxième délétion correspond plus précisément à 3 délétions étagées, séparées par 2 régions normales de 400 kb et 1 Mb respectivement. Elle emporte de nombreux gènes dont les gènes *REEP1*, *LRRTM1* et *CTNNA2*, et a déjà été retrouvée chez des patients avec déficience intellectuelle, retard psychomoteur et retard de langage. Ces délétions contribuent toutes deux au phénotype du patient.
Le caryotype constitutionnel a confirmé la présence, d'une délétion sur les bras courts d'un chromosome 2 survenue *de novo* : 46,XY,del(2)(p11.2p12)dn. L'étude en FISH a ensuite révélé la présence d'un remaniement de structure complexe, comprenant : les 4 délétions étagées sur les bras courts d'un chromosome 2 dans la région 2p13.2p11.2 ; et l'insertion des 2 petits segments des bras courts du chromosome 2 en 2p12 (vus comme normaux en ACPA) dans la région péri-centromérique des bras longs d'un chromosome 3 (3q12).
Une analyse par séquençage génome entier (*Whole Genome Sequencing*, WGS) a donc été réalisée afin de mieux caractériser les points de cassures à l'échelle de la base nucléotidique. Elle a permis de confirmer l'implication à la fois d'un chromosome 2 et d'un chromosome 3 et la présence de 7 points de cassures chromosomiques au total.
Ainsi, la présence de plus de 3 CNVs non polymorphes sur le même chromosome doit faire évoquer la présence d'un remaniement plus complexe. Cette observation i) confirme que le WGS est une technique performante pour caractériser les remaniements chromosomiques complexes, ii) aide à la compréhension des mécanismes de survenue du réarrangement, iii) souligne la frontière floue entre remaniement complexe et chromoanagenesis.

P168 : Leucémie aiguë myéloïde avec une translocation réciproque t(11;22)(q23;q11) associé a une tétraploïdie : a propos d'un cas et revue de la littérature.

Auteurs :

maryem sahli (1), yassamine doubaj (1), aziza sbiti (1), wafa ammouri (2), abdelaziz sefiani (1)

1. Département de Génétique Médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Maroc, Centre de génomique humaine, Faculté de médecine et pharmacie, Université Mohammed V, Rabat, Maroc, rabat, Maroc
2. Service de médecine interne, Rabat, Maroc, Centre Hospitalier Universitaire Ibn Sina Rabat, Maroc, rabat, Maroc

Mots clefs : acute myeloid leukemia , t(11;22)(q23;q11) , tetraploidy

Résumé :

The diagnosis of acute myeloid leukemia (AML) is based on cytomorphology, immunophenotyping. According to the WHO update 2016 for the classification of leukemia, the genetics fundings allow to better define AML subtypes and to identify distinct biological entities with an impact on prognosis and treatment of the AML.
A complex karyotype is seen in 10–12% of patients with acute myeloid leukemia (AML) and it's associated with a poor prognosis.
We report here, a man aged 65 years old who present a pancytopenia and 62% of blastes on hemogram. The myelogram showed an aspect of acute myeloid leukemia without identifying any subtype and the immunophenotyping was normal. The hematological karyotype revealed the presence of two clones: one stemline with reciprocal translocation t(11;22) in 25% of cells ; and a second clone derived from the first with tetraploidy in 75% of cells .
To the best of our knowledge, this rearrangment has been reported as the sole cytogenetic abnormality in only 4 patients in the literature. Structural abnormalities involving the chromosome band 11q23 are among the most common cytogenetic aberrations in both lymphoblastic and myeloid acute leukemia with a very poor prognosis.
In our patient, the medullary karyotype allowed a classification of this acute leukemia despite an inconclusive myelogram and immunophenotyping .Through this work, we have been able to demonstrate the interest of the hematological cytogenetic in the confirmation , classification and the management of a patient with acute myeloid leukemia .

P169 : Nouvelle mutation récurrente du gène BRCA1 au Maroc

Auteurs :

Mouna Ouhenach (1), abdelali ZRHIDRI (2), Siham Chafai Elalaoui (2), Jaber Lyahyai (1), fatima zahra laarabi (1), abdelaziz sefiani (3)

1. Département de Génétique Médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Maroc, Centre de Génomique Humaine, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université mohammad V Rabat, Maroc., rabat, Maroc
2. Département de Génétique Médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Maroc, Centre de Génomique Humaine, Faculté de Médecine et de Pharmacie,Université Mohammed V Rabat, Maroc, rabat, Maroc
3. Département de Génétique Médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Maroc, Centre de Génomique Humaine, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université Mohammed V Rabat, Maroc, rabat, Maroc

Mots clefs : cancer du sein, BRCA1, c.2125_2126insA, mutation récurrente.

Résumé :

Le cancer du sein représente un problème majeur de santé publique au monde. Dans 5 à 10 % des cas, il est dû à une mutation germinale des gènes *BRCA1*ou *BRCA2,* à l'origine de la prédisposition héréditaire du cancer du sein et/ou ovaire. Des centaines de mutations ont été rapportées dans ces 2 gènes. Au Maroc, quelques mutations ont été décrites comme récurrentes.
Nous rapportons dans ce travail, les observations de 4 patientes non apparentés ayant un cancer du sein familial. Les gènes *BRCA1/2* ont été analysés par Séquençage de Nouvelle Génération (NGS). Ces 4 patientes étaient jeunes âgées entre 21 ans et 37 ans avec un cancer du sein triple négatif. L'analyse moléculaire a montré la présence de la mutation c.2125_2126 insA au niveau du gène *BRCA1*.
En plus de cette mutation identifiée chez 4 patientes, d'autres mutations récurrentes spécifiques de la population marocaine. Les mutations du gène *BRCA1 :* c.798_799delTT (spécifique du Nord-Afrique) et c.5309G > T(Nord du Maroc), et les mutations du gène *BRCA2 :* c.1310_1313delAAGA (Nord-Est) et la c.7235insG_7463insG (Sud du Maroc).
La mutation récurrente c.2125_2126insA du gène *BRCA1*, que nous rapportons dans ce travail comme récurrente, a déjà été rapportée chez quelque familles canadiennes, et chez trois familles algériennes avec également un cancer du sein triple négatif. L'intérêt de ce travail, est d'étudier le profil génétique du cancer du sein de la population marocaine et de permettre aux patientes avec cancer du sein héréditaire d'établir un diagnostic de première intention.

P170 : Thrombocythémie essentielle avec la mutation JAK2V617F sur une leucémie myéloide chronique chez un patient marocain avec réponse moléculaire complète.

Auteurs :

maryem sahli (1), yassamine doubaj (1), aziza sbiti (1), abdelaziz sefiani (1)

1. Département de Génétique Médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Maroc, Centre de génomique humaine, Faculté de médecine et pharmacie, Université Mohammed V, Rabat, Maroc, rabat, Maroc

Mots clefs : Essential thrombocytemia , V617F , chronic myelogenous leukemia .

Résumé :

Myeloproliferative neoplasms (MPNs) include phenotypically diverse groups of clonal disorders, characterized by proliferation of 1 or more components of the myeloid lineage.
MPN are classified into two major categories; MPN phi (+) with translocation between chromosome 9 and 22 (BCR-Abl1 gene fusion) and phi (-) MPN including essential thrombocytosis (ET), polycythemia vera (PV), and primary myelofibrosis (PMF).
At the molecular level, the JAK2V617F mutation was found in 96%, 65% and 55% in patients with PV, PMF and ET respectively. Recently, some authors have reported that this mutation can precede, co-occur with and also succeed the BCR-ABL fusion transcript.
Here we present a case of a 57-year old male; initially diagnosed with a CML, the patient underwent treatment with imatinib changed to dasatinib. Three years after achieving major molecular response, he developed a thrombocytosis for which a molecular study of the *Jak2* gene was realized and revealed the presence of a heterozygous V617F mutation.
We report the first case to our knowledge of ET by JAK2V617F mutation occur in patient treated for CML phi +.

P171 : Etude pilote sur la qualité de vie après annexectomie bilatérale prophylactique chez les femmes porteuses d'une mutation de BRCA1/2 du programme GENECAL (Alsace-Lorraine)

Auteurs :

Elodie Haser (1, 2), François Severac (3), Sophie Laurent (1, 4), Fanchon Gillmann (1), Amandine Cadenes (5, 6), Hélène de Romémont (5, 6), Elisabeth Luporsi (6), Philippe Jonveaux (5, 6), Jean-Marc Limacher (2), Jean-Pierre Fricker (4), Maugard Christine M (1, 7)

1. UF 6948, Oncogénétique évaluation familiale et suivi, Programme Genecal, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
2. Service d'Oncogénétique, Hôpital Pasteur, Colmar, France
3. UF 3631, Département d'information médicale, Service de Santé Publique, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
4. Service d'Oncogénétique, Centre Paul Strauss, Strasbourg, France
5. Laboratoire de Génétique, CHRU de Brabois, Vandoeuvre-lès-Nancy, France
6. UF 3244, Oncogénétique évaluation familiale et suivi - GENECAL, CHRU de Brabois, Vandoeuvre-lès-Nancy, France
7. UF 1422, Oncogénétique Moléculaire, Laboratoire d'Oncobiologie, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France

Mots clefs : Oncogénétique, Prise en charge, Qualité de vie, Annexectomie bilatérale prophylactique, BRCA

Résumé :

Les femmes porteuses d'une mutation constitutionnelle sur *BRCA1/2* présentent un risque très élevé de développer un cancer du sein, des ovaires ou des trompes (Kuchenbaecker *et al*, JAMA, 2017). L'Institut National du Cancer recommande de recourir à l'annexectomie bilatérale prophylactique à partir de l'âge de 40 ans lorsqu'une mutation sur *BRCA1* a été identifiée et de 45 ans s'il s'agit d'une mutation sur *BRCA2*. Cette intervention diminue de façon considérable le risque de cancer des ovaires et des trompes (Finch *et al*., J Clin Oncol, 2014). Mais, elle a pour conséquence l'apparition brutale d'une ménopause chirurgicale.
Les objectifs de notre étude sont (i) d'évaluer la gravité des symptômes de la ménopause présents chez ces femmes et (ii) d'évaluer les pratiques des équipes médicales qui les prennent en charge avant et après le recours à cette intervention.
Cent-sept femmes recrutées dans les services d'oncogénétique alsaciens et lorrains, participant au programme GENECAL d'accompagnement de suivi ont été invitées à participer à cette étude. Les critères d'inclusion étaient : être porteuses d'une mutation sur l'un des gènes *BRCA*, avoir eu recours à une annexectomie bilatérale prophylactique quel que soit l'âge de sa réalisation, absence d'antécédent personnel de cancer des annexes avant ce geste chirurgical.
Un questionnaire anonyme leur a été adressé mi-août 2017. Il portait sur leurs caractéristiques sociodémographiques, leur histoire personnelle et familiale de cancer, leur statut génétique, leur âge au moment du test, ainsi que leur histoire de chirurgie prophylactique et les critères ayant motivé leur décision de réaliser cette intervention. Les effets de la ménopause associée ont été mesurés grâce à une échelle adaptée, « *menopause rating scale* ». L'évaluation des pratiques médicales associées à ce geste a porté sur l'information reçue sur les conséquences de l'annexectomie prophylactique, la prescription d'un éventuel traitement pour pallier aux effets de la ménopause et son efficacité, le recours éventuel à un accompagnement psychologique, enfin le suivi gynécologique effectué après ce geste chirurgical. Nous avons également demandé aux participantes quelles étaient leurs suggestions concernant l'amélioration de l'accompagnement des personnes ayant recours à l'annexectomie prophylactique et/ou ayant une prédisposition héréditaire aux cancers.
Nous avons déjà reçu en retour 71 (66%) questionnaires. Les données recueillies vont être analysées afin d'évaluer la tolérance de l'annexectomie bilatérale prophylactique chez les participantes. Le score obtenu au *menopause rating scale* (femmes pré- vs post-ménopausée lors de l'annexectomie) sera comparé à celui de la population de référence européenne. L'impact de cette intervention prophylactique sur la qualité de vie des participantes sera évalué, ainsi que les modalités de prise en charge. Les résultats ainsi que les suggestions d'amélioration de suivi seront présentés lors des assises.

P172 : Identification par séquençage exomique d'un CNV homozygote entrainant une infertilité masculine chez 10% des patients présentant un phénotype d'anomalies morphologiques multiples du flagelle spermatique

Auteurs :

kherraf Zine-Eddine (1, 2), Amir Amiri-Yekta (3), Thomas Karaouzène (4), Charles Coutton (4, 5), Pauline Le Tanno (4), Marie Christou-Kent (4), Guillaume Martinez Martinez (4, 5), Raoudha Zouari (6), Mélanie Bonhivers (7), Christophe Arnoult (4), Pierre Ray (4, 2)

1. Genetic Epigenetic and Therapies of Infertility, Institute for Advanced Biosciences, Inserm U1209, CNRS UMR 5309, Université Grenoble Alpes, Grenoble, France
2. UM GI-DPI, CHU de Grenoble, Grenoble, France
3. Department of Genetics, Reproductive Biomedicine Research Center, Royan Institute for Reproductive Biomedicine, Tehran, Iran
4. Genetic Epigenetic and Therapies of Infertility, Institute for Advanced Biosciences, Inserm U1209, CNRS UMR 5309, Université Grenoble Alpes, Grenoble, France
5. UM de Génétique Chromosomique, CHU de Grenoble, Grenoble, France
6. Polyclinique les Jasmins, Centre d'Aide Médicale à la Procréation, Tunis, Tunisie
7. Microbiologie Fondamentale et Pathogénicité, CNRS UMR 5234, University Bordeaux, Bordeaux , France

Mots clefs : Exome, infertilité, tératozoospermie, axonème

Résumé :

L'infertilité masculine est un trouble reproductif fréquent et la génétique contribue à sa pathogénie. Le syndrome MMAF (multiple morphological abnormalities of the sperm flagella) caractérisé par une asthénoteratozoospermie est un phénotype rare et sévère d'infertilité masculine avec une forte composante génétique.
Dans le cadre de notre projet ANR « MAS FLAGELLA » nous avons recruté 78 patients présentant une infertilité primaire caractérisée par ce phénotype. Le séquençage exomique de ces patients nous a permis d'identifier la présence de variants bi-alléliques délétères chez 30% des patients analysés dans les gènes *DNAH1*, *CFAP43* et *CFAP44* décrits précédemment dans ce phénotype. L'analyse des CNVs identifiés par le logiciel ExomeDepth nous a permis d'identifier une délétion homozygote de deux exons (exons 20 et 21 sur 22 exons au total) du gène *WDRA* chez 7 patients non apparentés d'origine nord-africaine.
Grâce à une stratégie de PCR walking nous avons caractérisé l'étendue de la délétion et séquencé les points de cassure. Dix patients supplémentaires ont été testés et cette même mutation a été retrouvée chez deux patients. Nous avons observé que tous les patients présentaient exactement la même délétion de 7731 pb et présentaient le même haplotype au niveau de cette région indiquant un effet fondateur. L'analyse bio-informatique du breakpoint et des séquences flanquantes montre que cet évènement est la résultante d'une recombinaison complexe entre des rétrotransposons de type SINE-VNTR-*A*lus (SVA) localisés dans *WDRA* et dans le gène *CLI* distant de 400Mb du locus délété. Aucune anomalie génétique n'a été détectée dans ce locus chez les patients.
Nous avons confirmé par RT-qPCR à partir d'un panel de tissus humains que *WDRA* est spécifiquement exprimé dans le testicule. Ce gène code pour une protéine appartenant à la famille des « WD-repeat proteins » qui sont impliquées dans des processus cellulaires variées. Il a été montré précédemment que *FapA*, l'orthologue de *WDRA* chez Chlamydomonas code pour une protéine localisée dans l'axonème ciliaire au niveau du CSC (calmodulin and spoke-associated complex) qui est situé dans la base du radial-spoke, RS3 en contact avec la dynéine. Il a également été montré que l'inactivation de *FapA* chez Tetrahymena cause une baisse significative de la mobilité ciliaire et une destructuration voir une perte des RS3. Nous avons par ailleurs confirmé que l'inactivation par RNAi des orthologues de nos deux gènes chez le trypanosome entrainait une réduction importante de la croissance cellulaire. La division cellulaire étant dépendante du flagelle chez le trypanosome, ce phénotype confirme l'importance de ces gènes dans la structure flagellaire.
Ce travail démontre que les altérations de *WDRA* sont responsables d'environ 10% du phénotype MMAF chez les patients Nord Africains et suggère que la protéine WDRA joue un rôle déterminant dans le maintien de l'intégrité de l'axonème et de la mobilité du flagelle spermatique.

P173 : Etude rétrospective sur les anomalies chromosomiques identifiées chez des patients marocains atteints d'une anomalie de développement sexuel

Auteurs :

Zouhair ELKARHAT (1, 2), Latifa ZAROUF (3), Lunda RAZOKI (3), Jamila ABOULFARAJ (3), Abderraouf HILALI (2), Boubker NASSER (2), Sanaa NASSEREDDINE (3), Abdelhamid BARAKAT (1), Hassan ROUBA (1)

1. laboratoire de Génomique et Génétique Humaine, Institut Pasteur du Maroc, Casablanca, Maroc
2. Laboratoire de Biochimie et Neurosciences, Faculté des Sciences et Techniques de Settat, Settat, Maroc
3. laboratoire de cytogénétique, Institut Pasteur du Maroc, Casablanca, Maroc

Mots clefs : Les Anomalies du Développement Sexuel, l'ambigüité sexuelle, l'ectopie testiculaire, l'aménorrhée primaire, l'hypospadias, le micropenis, le syndrome de Klinefelter

Résumé :

Les Anomalies du Développement Sexuel (DSD) regroupe un grand nombre de pathologies différentes qui ont en commun un développement anormal des organes génitaux externes et/ou internes. L'objectif de cette étude est de déterminer la forme de DSD la plus fréquente ainsi que la fréquence des anomalies chromosomiques identifiés chez 860 patients ayant une anomalie de développement sexuel et qui ont été recruté par le laboratoire de cytogénétique de l'institut pasteur du Maroc entre 1996 et 2016. Notre étude montre que l'ambigüité sexuelle est la forme de DSD la plus fréquente au Maroc avec une fréquence de (30.47%), suivie par l'ectopie testiculaire (23.37%), l'aménorrhée primaire (18.72%), l'hypospadias (17.21%), le micropenis (5.47%), l'aménorrhée Secondaire (2.91%), et le syndrome de Klinefelter (1.86%). En se basant sur la classification des anomalies de développement selon le consensus de Chicago de 2005, 46,XY DSD est la forme de DSD la plus fréquente (62.32%), suivie par 46, XX DSD (29.65%) et les anomalies chromosomiques DSD (8.02%). La fréquence des anomalies chromosomiques identifiés chez les patients suspecté d'avoir le syndrome de klinefelter est (43.75%), suivie par l'aménorrhée primaire (17.39%), l'hypospadias (12.84%), l'ambigüité sexuelle (8.02%), le micropenis, (6.38%), l'aménorrhée Secondaire (4%) et l'ectopie testiculaire (1.99%).Les anomalies chromosomiques de nombre sont les anomalies chromosomiques les plus fréquentes (3.60%), suivie par la forme mosaïque (2.79%) et enfin les anomalies chromosomiques de Structure (1.63%). Nos résultats montrent l'importance de l'analyse cytogénétique comme une première approche dans le diagnostic des patients ayant une anomalie de développement sexuel.

P174 : Le syndrome DICER1 : à propos d'une grande famille française

Auteurs :

Zoe Neviere (1), Lisa Golmard (2), Florence Polycarpe (1), Fanny Cohen (1), Céline Gasnier (1), Julie Tinat (3), Louise Crivelli (4), Samuel Le Sourd (4), Vanessa Colombert (4), Philippe Denizeau (4), Brivael Gery (4), Marion Gauthier Villars (2), Pascaline Berthet (1)

1. Service d'oncogénétique clinique, Centre François Baclesse, Caen, France
2. Service de Génétique, CLCC Institut Curie, Paris, France
3. Service de Génétique Clinique, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France
4. Service d'oncogénétique clinique, Centre Eugène Marquis, Rennes, France

Mots clefs : DICER1 syndrome, pinealoblastoma, ovarian sertoli-leydig cell tumor, thyroid deseases

Résumé :

Le gène *DICER1* code pour une endoribonucléase impliquée dans la maturation des micro-ARN, intervenant dans la régulation de l'expression génique. Les mutations hétérozygotes constitutionnelles de *DICER1* sont rares et peuvent prédisposer à différents types de tumeurs, survenant principalement pendant l'enfance ou l'adolescence. Les plus rapportées sont les pleuropneumoblastomes, les lésions thyroïdiennes (goitres multinodulaires ou carcinomes de la thyroïde), les tumeurs ovariennes à cellules de Leydig et de Sertoli, et les néphromes kystiques.
Le phénotype de la famille B. est marqué par plusieurs cas de tumeurs déjà rapportés dans la littérature ainsi que d'autres pathologies plus rares, jamais recensées. Le cas index de cette famille a présenté une tumeur à cellules de Leydig et de Sertoli de l'ovaire à l'âge de 15 ans, une thyroïdectomie partielle à 16 ans puis un adénosarcome du col de l'utérus à 31 ans. Son père a bénéficié d'une thyroïdectomie à 52 ans pour un goitre. Ses deux tantes, un de ses deux oncles et ses cousins paternels ont aussi présenté des lésions thyroïdiennes. Parmi ses cousins paternels, il existe aussi trois cas de tumeur pinéale (un pinéaloblastome et deux pinéalomes), un oligoastrocytome, un papillome fibro-élastique de la valve tricuspide et un cholangiocarcinome.
L'analyse du gène *DICER1* chez le cas index a permis d'identifier le variant c.4206+1G > A, retenu comme délétère car il abolit le site donneur d'épissage de l'intron 22.
A ce jour, 11 analyses d'apparentés ont été effectuées dans cette famille, 8 apparentés sont porteurs, 3 non porteurs. 3 apparentés sont porteurs obligatoires. 9 des 11 apparentés porteurs ou porteurs obligatoires ont présenté au minium un des signes cliniques du spectre de ce syndrome. Les âges les plus précoces d'atteinte sont de 12 ans pour les lésions cérébrales et thyroïdiennes, et de 15 ans pour la tumeur ovarienne. La pénétrance est de 81,8% ou de 36,3% selon que l'atteinte thyroïdienne soit prise en compte ou non. A noter qu'un des apparentés non porteurs a présenté des lésions thyroïdiennes.
L'analyse somatique du gène *DICER1* dans l'oligoastrocytome, n'a pas identifié de second événement mutationnel. La mutation constitutionnelle de *DICER1* ne serait donc pas impliquée dans le développement de cette tumeur.
Il existe donc dans cette famille des tumeurs atypiques (le cholangiocarcinome et la tumeur fibro-élastique de la valve tricuspide) dont le lien avec la mutation germinale de *DICER1* n'est pas établi. Par ailleurs, contrairement à ce qui a été rapporté dans la littérature, le taux de pénétrance y parait élevé. La poursuite des analyses somatiques du gène *DICER1* ainsi que des tests fonctionnels pourraient permettre d'avancer dans la compréhension du phénotype familial.
De manière plus globale, des études de cohortes prospectives permettraient d'établir le taux de pénétrance lié à ce syndrome, les risques tumoraux et de codifier la prise en charge préventive des apparentés.

P175 : Risque de tumeurs rénales chez les patients ayant un syndrome de Smith-Magenis : rôle du gène FLCN.

Auteurs :

Leïla Dardour (1, 2), Pieter Verleyen (3), Karl Lesage (3), Maureen Holvoet (4), Koen Devriendt (4)

1. Centre for Human Genetics, KU Leuven and UZ Leuven, Leuven, Belgium, Belgique
2. Département de génétique médicale, Faculté de médecine de Sousse, Sousse, Tunisie
3. Center for Urology, AZ Groeninge, Kortrijk, Kortrijk, Belgique
4. Center for Human Genetics, KU Leuven and UZ Leuven, Leuven, Belgium, Belgique

Mots clefs : Smith-Magenis, Tumeurs rénales, FLCN

Résumé :

Le syndrome de Smith-Magenis syndrome (SMS) est un syndrome des gènes contigus dû, le plus souvent, à une délétion récurrente du chromosome 17p11.2.
Nous rapportons le cas d'un patient âgé de 57 ans, ayant un SMS, qui présente des tumeurs rénales multiples bilatérales, de découverte fortuite.
La survenue de tumeurs rénales chez ce patient serait liée à l'haploinsuffisance du gène *FLCN* : un gène suppresseur de tumeurs, localisé dans la région 17p11.2 délétée. En effet, la mutation germinale de ce gène est responsable du syndrome de Birt-Hogg-Dubé (BHDS), une génodermatose autosomique dominante caractérisée par des lésions cutanées bénignes, des tumeurs rénales de type histologique inhabituel et des kystes pulmonaires pouvant se compliquer de pneumothorax.
Nous voulons, à travers cette observation, mettre l'accent sur l'intérêt de rechercher des éventuelles manifestations du BHDS lors du suivi des patients ayant un syndrome de Smith-Magenis.

P176 : Optimisation du diagnostic moléculaire du cancer colorectal par l'analyse NGS d'un panel de gènes après capture des séquences exoniques et introniques

Auteurs :

Stéphanie BAERT-DESURMONT (1), Sophie COUTANT (2), François LECOQUIERRE (1), Mathias SCHWARTZ (1), Maud BLANLUET (1), Françoise CHARBONNIER (1), Myriam VEZAIN (1), Raphaël LANOS (1), Marion GERARD (3), Jacqueline BOU (4), Emilie BOUVIGNIES (4), Steeve FOURNEAUX (4), Gwendoline LIENARD (4), Sandrine MANASE (4), Stéphanie VASSEUR (4), Gaëlle BOUGEARD (1), Isabelle TOURNIER (5), Thierry FREBOURG (1)

1. Département de Génétique, CHU de Rouen et Inserm U1245, UNIROUEN, Normandie Univ, Centre Normand de Génomique et de Médecine Personnalisée, CHU de Rouen, Inserm et Université de Rouen, Rouen, France
2. Service de Génétique et Inserm U1079, Centre Normand de Génomique Médicale et Médecine Personnalisée, CHU de Rouen, Inserm et Université de Rouen, Rouen, France
3. Département de Génétique, CHU de Caen, Normandie Univ, Centre Normand de Génomique et de Médecine Personnalisée, CHU de Caen, Caen, France
4. Département de Génétique, CHU de Rouen, Centre Normand de Génomique et de Médecine Personnalisée, CHU de Rouen, Rouen, France
5. Inserm U1245, UNIROUEN, Normandie Univ, et Département de Génétique, CHU de Rouen, Centre Normand de Génomique et de Médecine Personnalisée, Inserm U1245, Rouen, France

Mots clefs : prédisposition aux tumeurs colorectales, panel de gènes NGS, capture, reads chimériques, variants structuraux

Résumé :

Nous avons développé et validé une stratégie de séquençage massif en parallèle d'un panel de dix gènes impliqués dans les formes mendéliennes de prédisposition au cancer colorectal (CCR) (*MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *PMS2*, *APC*, *MUTYH*, *STK11*, *SMAD4*, *BMPR1A* et *PTEN*), récemment élargi aux gènes plus rarement impliqués (*POLE, POLD, NTHL1* et *MSH3*). Cette stratégie combine un enrichissement par capture en phase liquide (SureSelect, Agilent) des exons et introns, un séquençage haut-débit sur une plate-forme Illumina (MiSeq et NextSeq) et un double pipeline bioinformatique, CASAVA et BWA-GATK (Broad Institute), pour sécuriser la détection des variations, qui sont annotées par Alamut Batch (Interactive BioSoftware). L'identification des réarrangements génomiques est assurée par l'algorithme CANOES. Les patients analysés dans cette étude ont été reçus en consultation d'oncogénétique dans le cadre d'une suspicion de prédisposition héréditaire au CCR. Nous avons détecté chez ces 1808 patients un total de 357 variations de classes 4 et 5, correspondant à un rendement mutationnel de 19 % : variations non-sens ou décalant le cadre de lecture (46 %), variations faux-sens ou insertions-délétions en phase rapportées délétères (27 %), mutations d'épissage (14 %), et réarrangements de grande taille (13 %). Le taux de détection d'altération d'un gène *MMR* chez les patients avec tumeur évocatrice d'un syndrome de Lynch était supérieur à 30 %. Cette stratégie permet d'explorer les phénotypes chevauchants (mutations bialléliques de *MUTYH* entrainant une inactivation somatique d'un gène *MMR*, mimant un syndrome de Lynch), de déceler les mutations en mosaïque notamment du gène *APC*, et de réduire les délais d'analyse. Au-delà de ces avantages, la capture des exons et des introns permet de mettre en évidence des variants structuraux (SVs), difficilement détectables par les techniques conventionnelles, et à l'origine d'errance diagnostique. Nous avons, en particulier, identifié (i) un remaniement génomique emportant les derniers exons du gène *BMPR1A* et l'intégralité du gène adjacent *PTEN* chez une jeune femme présentant à 21 ans une polypose mixte; (ii) une insertion d'un élément *Alu* dans l'exon 8 du gène *MSH2* chez un patient présentant un syndrome de Lynch ; (iii) une délétion de 16 kb, en mosaïque, emportant les exons 3 à 10 du gène *STK11* et s'étendant en aval jusqu'à l'exon 4 du gène adjacent *CBARP*, chez une patiente présentant une forme particulièrement sévère de syndrome de Peutz-Jeghers et qui a pu bénéficier d'un DPN. Ce dernier événement complexe a été finement caractérisé grâce à l'analyse des reads chimériques, récemment développée au laboratoire. Cette stratégie, qui permet un taux de détection mutationnel élevé, une réduction des délais d'analyse et, en un seul temps, l'identification de différents types d'altération génique dont les SVs, en les caractérisant précisément, représente une optimisation significative du diagnostic moléculaire des formes héréditaires de CCR.

P177 : Un an d'expérience des panels de gènes dans le contexte de prédisposition héréditaire au cancer du sein et de l'ovaire: un retour de pratique.

Auteurs :

Samuel Landman (1), Erell Guillerm (1), Murielle Renard (1), Elodie Paris (2), Filipe Pires (1), Mélanie Cormier (2), Pauline Lucca (3), Julien Buratti (3), Melanie Eyries (1), Mathilde Warcoin (3), Veronica Cusin (1), Chrystelle Colas (1), Florent Soubrier (1), Florence Coulet (1)

1. Laboratoire d'Oncogénétique et Angiogénétique Moléculaire-Département de Génétique, Hôpitaux Universitaires La Pitié Salpêtrière-Charles Foix, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Université Pierre et Marie Curie, PARIS, France
2. Laboratoire d'Oncogénétique et Angiogénétique Moléculaire- Département de Génétique, Hôpitaux Universitaires La Pitié Salpêtrière-Charles Foix, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Université Pierre et Marie Curie, Paris, France
3. Département de Génétique, Hôpitaux Universitaires La Pitié Salpêtrière-Charles Foix, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Université Pierre et Marie Curie, Paris, France

Mots clefs : HBOC, NGS, Oncogénétique, panel de gènes

Résumé :

Initialement, seuls les gènes *BRCA1* et *BRCA2,* étaient analysés dans le cadre de recherche de prédisposition héréditaire au cancer du sein et de l'ovaire (HBOC). Les mutations identifiées sur ces gènes expliquaient ~10% des cas index sélectionnés sur critères familiaux. Grâce aux techniques de NGS, la recherche de mutations sur d'autres gènes d'intérêt, conférant des risques plus ou moins élevés, a été implémentée dans le cadre du diagnostic de routine. Dans ce travail, nous décrivons une année d'expérience sur l'utilisation de panels de gènes dans le contexte HBOC.
Nous avons utilisé la génération de librairies par la technologie multiplex amplicon (*BRCA Hereditary Cancer MASTR™ plus)* avec analyse sur le séquenceur MiSeq. Nous présentons les résultats sur une cohorte de 1394 patients ayant une indication HBOC. L'analyse de variants (SNV et CNV) est réalisée par le logiciel SeqPilot SeqNext 4.3.1. et a permis la validation d'un pipeline bio-informatique local. Les variants de classe 4 (probablement causal) et 5 (causal) sont confirmés en Séquençage Sanger ou en MLPA. Les résultats diagnostiques sont rendus sur 22 gènes, soit 12 gènes d'utilité clinique dans le contexte HBOC *(BRCA1-BRCA2-PALB2-CDH1-TP53-RAD51C-RAD51D-MLH1-MSH2-MSH6-PTEN)* et 10 gènes « de recherche clinique » *(ATM-BARD1-BRIP1-STK11-MRE11A-RAD50-NBN-MUTYH-CHEK2-BLM-XRCC2)* selon *GGC*-Unicancer (juin 2017).
Concernant les SNV, au moins une mutation pathogène a été identifiée chez 199/1394 patients (14,3%). Chez 123/1394 patients (8.8%) la mutation concernait un gène d'utilité clinique : *23.1% BRCA1, 23.6% BRCA2, 6% PALB2, 1.5% RAD51C, 1.5% RAD51D, 1% TP53, 0.5% CDH1, 0.5% MSH2, 1% MSH6.* Nous rapportons également l'identification de doubles mutations pathogènes (*BRCA1+PALB2 ; BRCA2+MSH2).* Chez 76/1394 patients (5.5%) la mutation concernait un gène « de recherche clinique » *(*majoritairement *ATM* et *CHEK2).* Malgré la technologie multiplex amplicons, les nouveaux algorithmes bioinformatiques (SeqPilot 4.3.1; MASTR reporter) ont permis la détection de CNV de façon fiable. Les réarrangements détectés portent sur les gènes *BRCA1* (n=14) *BRCA2* (n=1) *RAD51C* (n=1) *CDH1* (n=1) et *STK11* (n=1).
L'utilisation en routine diagnostique des panels de gènes dans le contexte HBOC permet l'élucidation de cas familiaux supplémentaires ramenant le taux de détection historique de 10% (gènes *BRCA1,2*) à 15%. Les gènes majoritairement mutés restent *BRCA1*, *BRCA2*, *PALB2, RAD51C et RAD51D*. Les panels de gènes permettent de révéler des mutations hors des contextes cliniques connus jusqu'alors pour les gènes comme *MSH6*, *CDH1* et *TP53* et pour lesquels le conseil génétique devra évoluer. Enfin malgré plus de gènes testés, le taux d'élucidation reste faible dans le contexte HBOC laissant la possibilité de mutations de l'ADN non codant sur les gènes majeurs et aux gènes de susceptibilité dont les effets combinés pourront être précisés par de grandes études d'épidémiologie génétique.

P178 : Première identification du profil moléculaire des tumeurs du côlon par technique de séquençage haut débit au Maroc : à propos d'une série de cas.

Auteurs :

Wiam SMAILI (1), Abdelali ZRHIDRI (2), Imane CHERKAOUI JAOUAD (3), Jaber LYAHYAI (1), Mouna OUHENACH (2), Sanae SEFIANI (4), Saad EL BAROUDI (5), Nawal AHBEDDOU EL OUAZZANI (6), Abdelaziz SEFIANI (3, 7)

1. Centre de Génomique Humaine , Faculté de Médecine et de Pharmacie- Université Mohamed V- Souissi, Rabat, Maroc
2. Centre de Génomique Humaine , Faculté de Médecine et de Pharmacie - Université Mohamed V - Rabat, Rabat, Maroc
3. Département de Génétique Médicale, Institut National d'Hygiène – Rabat, Rabat, Maroc
4. Service d'anatomo-pathologie, Hôpital Universitaire International Cheikh Zaid, Rabat, Maroc
5. Service de Chirurgie Viscérale, Hôpital Universitaire International Cheikh Zaid, Rabat, Maroc
6. Service d'Oncologie médicale, Hôpital Universitaire International Cheikh Zaid, Rabat, Maroc
7. Centre de Génomique , Hôpital Universitaire International Cheikh Zaid, Rabat, Maroc

Mots clefs : Séquençage de nouvelle génération, cancer colorectal , profil moléculaire, Maroc

Résumé :

Le cancer colorectal (CCR) est le deuxième cancer le plus fréquent chez les femmes et le troisième chez les hommes dans le monde. L'évaluation de la recherche des mutations génétiques grâce à l'avènement de technologies de séquençage nouvelle génération a révolutionné l'approche diagnostique et thérapeutique de ces maladies. Ainsi, la compréhension de certaines de ces mutations et de leur potentiel prédictif et pronostique a initié l'ère du traitement personnalisé du cancer et une meilleure prise en charge des patients

Nous avons identifié par technique de séquençage haut débit, au moyen d'un appareil PGM ion torrent et du panel Ion AmpliSeqTM cancer hotspot v2, le profil moléculaire des tumeurs colorectales sporadiques chez une série de 16 patients marocains. Outre les mutations au niveau des gènes les plus communément fréquents dans les CCR (*KRAS, NRAS, BRAF, TP53, APC* et *PIK3CA)* nous avons pu identifier d'autres mutations beaucoup moins fréquentes (*CTNNB1, SMAD4).*

Cette étude représente une introduction au Maroc de l'approche d'analyse du profil moléculaire des cancers par séquençage de nouvelle génération. Cette méthode plus exhaustive et relativement moins coûteuse vu la demande croissante, permettra une prise en charge personnalisée plus bénéfique aux patients, aidera à mieux définir le profil moléculaire des tumeurs et explorer la perspective d'établir une corrélation des anomalies moléculaires avec des caractéristiques clinico-pathologiques chez une plus grande cohorte.

P179 : Quand une analyse somatique de type Lynch-like est associée à une polypose adénomateuse confirmée. A propos d'un cas.

Auteurs :

Laurène REBATTU (1, 2), Jorel SALOMON (1, 2), Sylvie FONTEIX (3), Nicolas TARIS (4, 5), Christophe CORDIER (1), Cécile BRIGAND (6), Philippe BACHELLIER (7), Ludovic GLADY (8), Marie-Pierre CHENARD (9), Anne SCHNEIDER (10), Christine MAUGARD (3, 1)

1. UF6948. Oncogénétique clinique. Evaluation familiale et suivi, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
2. Consultation d'Oncogénétique, Hospices Civil de Colmar-Hôpital Pasteur, Colmar, France
3. UF1422. Oncogénétique Moléculaire. Laboratoire d'Oncobiologie, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
4. Service d'Oncogénétique , Centre Paul Strauss, Strasbourg, France
5. UF6948.Oncogénétique clinique. Evaluation familiale et suivi, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
6. Service de chirurgie générale et digestive, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
7. Chirurgie Hépatique, Endocrinienne et Transplantation , Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
8. LBBM, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
9. Laboratoire d'Anatomo-pathologie, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
10. UF6442. Biologie Moléculaire. Laboratoire d'Oncobiologie, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France

Mots clefs : Instabilité des microsatellites, Méthylation, Lynch-like, Polypose adénomateuse familiale

Résumé :

L'observation d'une instabilité des microsatellites avec perte d'expression de MLH1 et PMS2 a pu être associée à une mutation germinale sur l'un des deux gènes codant pour ces protéines ou à un mécanisme épigénétique avec méthylation du promoteur de *MLH1*. Nous rapportons un cas où ce phénotype tumoral a été observé chez une porteuse de mutation sur *APC*.
En 2014, Mme X, 37 ans, est hospitalisée aux Hôpitaux Universitaires de Strasbourg avec un cancer à point de départ digestif en phase terminale. Une consultation d'oncogénétique est demandée, Mme X étant inquiète d'un risque de transmission à son fils de 10 ans. La patiente n'a plus aucun contact avec sa famille. Elle évoque la notion de polypes chez ses sœurs âgées respectivement de 49 et 25 ans. Sa mère serait décédée à 50 ans d'un cancer colique. Madame X donne son consentement pour procéder à une analyse des gènes de prédisposition aux cancers. Elle décèdera quelques jours plus tard. La consultation de son dossier médical nous apprend qu'elle a été diagnostiquée avec une tumeur de l'angle colique droit en 2011, adénocarcinome colloïde à point de départ intestinal avec envahissement par contiguité du segment VI hépatique et du bloc duodénopancréatique. Une dizaine de polypes étaient disséminés au niveau du colon transverse et du colon gauche. Une hémicolectomie D avec duodénopancréatectomie céphalique et segmentectomie du VI a été réalisée en 2012.
Une analyse somatique est réalisée sur la tumeur colique, la métastase hépatique et un des nodules mésentérique prélevés. Elle met en évidence une perte d'expression des protéines MLH1 et PMS2 avec instabilité des microsatellites (phénotype MSI-H) sur les 3 prélèvements analysés faisant évoquer un syndrome de Lynch. La mutation BRAFV600E est absente. Aucune mutation n'est détectée sur les codons 12 et 13 de KRAS. L'analyse constitutionnelle ne retrouve aucune mutation délétère sur MLH1, MSH2, MSH6 en séquençage Sanger ni de grands réarrangements sur MLH1, MSH2 et EPCAM en technique MLPA. L'analyse par séquençage haut débit réalisée en 2016 ne détecte aucune mutation délétère ni de grand réarrangements sur les gènes de la famille MMR incluant PMS2. En revanche, une mutation germinale va être identifiée sur APC. La nièce de Mme X, vient consulter pour un diagnostic prénatal, Elle est porteuse de la même mutation sur APC confirmant le diagnostic de polypose adénomateuse familiale. L'hypothèse d'une méthylation du promoteur de MLH1 est évoquée pour expliquer le phénotype MSI-H. L'étude en pyroséquençage de la méthylation du promoteur de MLH1 confirme l'absence de méthylation sur les trois prélèvements.
L'histoire de Mme X met en évidence, d'une part l'intérêt des analyses en panel de gènes, l'analyse somatique de sa tumeur ayant pu faire errer le diagnostic, mais pose, d'autre part, la question du profil génomique de sa tumeur avec un phénotype MSI-H associé à une mutation germinale sur APC. Les investigations vont se poursuivre pour tenter d'y répondre.

P180 : Désorganisation de la structure chromatinienne et association de plusieurs facteurs de susceptibilité : des hypothèses pour expliquer l'expressivité variable des délétions 16p11.2. A propos d'un cas.

Auteurs :

Kévin CASSINARI (1), Anne-Marie GUERROT (2), Géraldine JOLY-HELAS (3), Pascal CHAMBON (1), Agnès LIARD (4), Nathalie DEMARQUE (5), Stéphane MARRET (6), Bertrand MACE (1), Thierry FREBOURG (2), Nathalie LE MEUR (1)

1. Laboratoire de Cytogénétique, Département de Génétique, CHU de Rouen et Inserm U1245, UNIROUEN, Normandie Univ, Centre Normand de Génomique et de Médecine Personnalisée, Rouen, France
2. Génétique Clinique, Département de Génétique, CHU de Rouen et Inserm U1245, UNIROUEN, Normandie Univ, Centre Normand de Génomique et de Médecine Personnalisée, Rouen, France
3. Laboratoire de Cytogénétique, Département de Génétique, CHU de Rouen et Inserm U1245, UNIROUEN, Normandie Univ, Centre Normand de Génomique et de Médecine Personnalisée, Roue, France
4. Service de Chirurgie Infantile, CHU de Rouen, Rouen, France
5. Service de Pédiatrie, CHI Elbeuf-Louviers, Rouen, France
6. Service de Néonatalogie, CHU de Rouen, Rouen, France

Mots clefs : 16p11.2, agénésie rénale, hémivertèbre, TBX6, SH2B1, TAD

Résumé :

Les délétions proximales BP4-BP5 de la région 16p11.2 sont des remaniements chromosomiques récurrents dont la prévalence est de 1 à 5/10 000. Comme les délétions BP2-BP3 distales, elles sont médiées par un système de *Non-AllelicHomologousRecombination* (*NAHR*) dans une région riche en *Low Copy Repeat* (*LCR*). Le phénotype classique comprend, de façon inconstante, un retard du développement, associé à des troubles de la parole, des troubles du spectre autistique, une dysmorphie non spécifique, une obésité, des anomalies vertébrales, une macrocéphalie et une surdité. Nous rapportons le cas d'un enfant de 2 mois, issu de parents non apparentés, sans antécédent particulier. Les échographies anténatales avaient révélé la présence d'un kyste de la fosse postérieure et d'une agénésie rénale droite. Le caryotype était normal et les parents n'avaient pas souhaité la réalisation d'une *CGH-array* pendant la grossesse. Le bilan radiologique postnatal a confirmé l'agénésie rénale droite et a mis en évidence des hémi-vertèbres T5 et T8, ainsi qu'une anomalie de la charnière lombo-sacrée. Le reste du développement neurologique de l'enfant était normal pour l'âge. La *CGH-array* a mis en évidence une délétion du bras court de chromosome 16, de 545 Kb correspondant à la délétion classique BP4-BP5 en 16p11.2. L'étude parentale n'a pas pu être réalisée. La faible fréquence des anomalies vertébrales observée dans la délétion 16p11.2 suggère que cette délétion ne peut pas être seule causale. Le gène *TBX6* situé dans cette région intervient dans le développement vertébral. En 2015, Wu *et al.,*ont émis l'hypothèse qu'un haplotype particulier situé sur le second allèle de *TBX6* constituerait un second facteur de risque à la survenue de troubles vertébraux. Il est possible que le patient soit porteur d'un tel haplotype majorant l'impact de la délétion 16p11.2 sur son développement vertébral. Par ailleurs, bien que décrites dans les délétions 16p11.2 distales ou dans les délétions plus grandes impliquant la région proximale et la région distale, les agénésies rénales n'ont jamais été rapportées dans les délétions 16p11.2 proximales. Le gène *SH2B1*, situé dans la région distale, est considéré comme candidat pour ce phénotype rénal. Des études de la conformation chromatinienne par 4-C, ont mis en évidence des interactions fortes entre les régions BP2-BP3 et BP4-BP5 qui correspondent à deux domaines topologiques (*TopologicallyAssociatedDomain, TAD*) adjacents. Par une dérégulation de la structure chromatinienne, un remaniement de cette région pourrait modifier l'expression des gènes proches tels que *SH2B1* responsable d'agénésies rénales. Ainsi, la variabilité d'expression clinique de la délétion 16p11.2 proximale pourrait être liée à une combinaison de mécanismes génétiques et épigénétiques différents et à l'effet à distance de la délétion sur l'expression de gènes structurellement intacts.

P181 : A propos d'un mécanisme rare d'aniridie, la délétion d'un élément régulateur du gène PAX6 identifiée par CGH-array

Auteurs :

Kévin CASSINARI (1), Géraldine JOLY-HELAS (2), Laetitia TRESTARD (3), Brigitte LEDUC (4), Bertrand MACE (1), Thierry FREBOURG (5), Pascal CHAMBON (1)

1. Laboratoire de Cytogénétique, Département de Génétique, CHU de Rouen et Inserm U1245, UNIROUEN, Normandie Univ, Centre Normand de Génomique et de Médecine Personnalisée, Rouen, France
2. Laboratoire de Cytogénétique, Département de Génétique, CHU de Rouen et Inserm U1245, UNIROUEN, Normandie Univ, Centre Normand de Génomique et de Médecine Personnalisée, Roue, France
3. Service de Pédiatrie, Centre Hospitalier du Belvédère, Mont-Saint-Aignan, France
4. Service d'ophtalmologie, CHU de Rouen, Rouen, France
5. Génétique Clinique, Département de Génétique, CHU de Rouen et Inserm U1245, UNIROUEN, Normandie Univ, Centre Normand de Génomique et de Médecine Personnalisée, Rouen, France

Mots clefs : Aniridie, PAX6, SIMO, EPL4, CGH-array, CNV

Résumé :

L'aniridie est une malformation oculaire congénitale rare caractérisée par une hypoplasie ou une agénésie de l'iris et de la fovea. Cette malformation peut être isolée ou syndromique et a une prévalence estimée entre 1/64000 et 1/96000 *(Landsend et al., 2017)*. Son origine est le plus souvent génétique, *à fortiori* dans le cadre d'aniridies bilatérales. La plupart des aniridies, avec une cause génétique retrouvée (90%), sont associées à des mutations ponctuelles ou des réarrangements provoquant l'haploinsuffisance du gène régulateur du développement *PAX6*, localisé en 11p13. Les délétions de *PAX6*, peuvent s'étendre au gène *WT1* et sont alors à l'origine d'une prédisposition aux tumeurs de Wilms s'intégrant au syndrome WARG. Nous rapportons le cas d'une enfant de 3 mois, née à terme, eutrophe, après une grossesse normale, de deux parents non apparentés, sans antécédents personnels et familiaux notables. Une aniridie bilatérale a été évoquée à l'examen du 3ème jour puis confirmé par un examen ophtalmologique, qui a également retrouvé une cataracte congénitale légère. Le reste de l'examen néonatal était sans particularité. Dans ce contexte, une microdélétion au locus du gène *PAX6* a été évoquée, mais non retrouvée par technique de FISH ciblée. En revanche, la recherche de microremaniement par CGH-array (Agilent 180K) a mis en évidence une délétion 11p13 de 654 Kb, confirmée par technique de FISH et survenue de novo, impliquant 4 gènes dont les 9 premiers exons et une partie du 9ème intron du gène *ELP4*. Ce remaniement situé 100 Kb en amont du gène *PAX6* n'affecte pas la frontière du domaine de régulation de la chromatine (TAD) d'après le navigateur Hi-C browser, mais emporte la région SIMO située dans l'intron 9 du gène *EPL4* et correspondant à une région régulatrice très conservée de 800 pb impliquée dans la régulation de l'expression du gène *PAX6*. Une variation ponctuelle faux-sens de la région SIMO avait été préalablement décrite comme affectant l'expression de *PAX6* chez un patient avec un phénotype d'aniridie (Bathia *et al.*, 2013). Une série très récente de patients avec aniridie (Franzoni *et al.*, 2017) rapporte par ailleurs 6 délétions à distance du gène *PAX6* et dont la région minimale commune correspond à cette séquence SIMO. Ces données nous ont donc permis de conclure au caractère causal de cette délétion 11p13. Il faut également noter que des variations de nombre de copie (CNV) polymorphiques ont été décrites au voisinage immédiat de SIMO dans la base de données de CNV de sujets contrôles (*Database of Genomic Variants, DGV*). Il convient donc d'être vigilant dans l'interprétation de CNVs à proximité du gène *PAX6*. En conclusion, cette observation conduit à souligner que, chez des patients avec aniridie sans altération détectable du gène *PAX6*, la recherche d'une cause génétique doit s'élargir à la recherche de variations n'impliquant potentiellement que la région SIMO.

P182 : Le risque très élevé de cancer du sein associé au gène CDH1 justifie l'inclusion de ce gène dans les panels de gènes réalisés devant des antécédents personnels et/ou familiaux de cancers du sein et/ou des ovaires

Auteurs :

Carole CORSINI (1), Antoine De Paux (2), Christine Lasset (3), Valérie Bonadona (3), Sophie Dussart (3), Dominique Vaur (4), Pascaline Berthet (5), Pascal PUJOL (1), Nadine Andrieu (6), Chrystelle Colas (7), Véronica Cusin (7), Odile Cohen-Haguenauer (8), Tan Dat N Guyen (9), Elisabeth Luporsi (10), Christine Maugard (11), Olivier Caron (12), Michel Longy (13), Capucine Delnatte (14), Christophe Jamain (15), Jessica Moretta-Serra (16), Catherine Nogues (16)

1. Service de génétique médicale, Unité d'oncogénétique clinique, CHRU Montpellier, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
2. service d'oncogénétique, Institut Curie, Paris, France
3. Service d'oncogénétique, Centre Léon Bérard, Lyon, France
4. Laboratoire de biologie moléculaire, Centre François Baclesse, Caen, France
5. service d'oncogénétique, centre François Baclesse, Caen, France
6. Service d'oncogénétique, Institut Curie, Paris, France
7. service d'oncogénétique, Hôpital La Pitié-Salpêtrière, Paris, France
8. service d'oncogénétique, Hôpital Saint-Louis, Paris, France
9. service d'oncogénétique, Institut Jean Godinot, Reims, France
10. service d'oncogénétique, Centre Alexis Vautrin, Nancy, France
11. laboratoire de biologie moléculaire, Hôpital Civil, Strasbourg, France
12. Service d'oncogénétique, Gustave Roussy, Villejuif, France
13. laboratoire de biologie moléculaire, institut Bergonié, Bordeaux, France
14. laboratoire de biologie moléculaire, Institut de Cancérologie de l'Ouest René Gauducheau , Nantes, France
15. unicancer, unciancer, Paris, France
16. service d'oncogénétique, Institut Paoli Calmettes, Marseille, France

Mots clefs : panel, gène CDH1, risque très élevé, cancer du sein

Résumé :

Introduction : A l'ère du Séquençage Haut Débit, des panels de gènes se sont développés en France et à l'International pour, entre autres, les analyses génétiques de patientes présentant des antécédents personnels et/ou familiaux de cancers du sein et/ou des ovaires (critères HBOC (Hereditary Breast and Ovarian Cancer syndrome)).
Un groupe de travail au sein du Groupe Génétique et Cancer (GGC), a été créé et soutenue par Unicancer, pour l'expertise des gènes des panels sein-ovaire (=HBOC) en vue d'établir des recommandations visant à harmoniser les pratiques. Ce groupe s'est, entre autres, intéressé au gène *CDH1*, connu pour favoriser la survenue de cancer gastrique diffus et de cancer du sein.
Matériel et méthodes : Deux personnes de deux disciplines différentes (conseiller en génétique et médecin) ont réalisés une étude bibliographique exhaustive du gène *CDH1*, avec une grille bibliographique pour chaque article, afin d'estimer les risques tumoraux de cancers du sein, de cancers des ovaires et de cancers gastriques diffus chez les individus porteurs d'un variant délétère de ce gène. Les résultats, le niveau de risque et le référentiel de prise en charge clinique ont été présentés au groupe expert puis discutés lors d'une réunion GGC praticiens puis en plénière.
Résultats : Trois cohortes descriptives ont été retenues avec une méthodologie adaptée et de puissance suffisante pour considérer le niveau de risque rapporté comme informatif. Pharoah rapporte en 2001 un Risque Cumulé (RC) de cancer du sein à 80 ans de 39% [12 - 84] (RC à 70 ans : 29% [9-71], RC à 60 ans: 19% [5-53], RC à 50 ans: 10% [3-31], RC à 40 ans: 3% [1-9] et RC à 30 ans: 0% [0-1]) avec un Risque Relatif (RR) entre 22 ans et 79 ans de 6,6. Kaurah rapporte en 2007 un RC de cancer du sein à 75 ans de 52 % [29 - 94]. Et plus récemment, en 2015, Hansford rapporte un RC de cancer du sein à 80 ans de 42% [23 - 68] avec un RR entre 10 et 49 ans de 7,7 et un RR>50 ans de 7,4. Dans la littérature, 42 variants pathogènes du gène *CDH1* ont été identifiés sur 60857 panels réalisés chez des patientes répondant aux critères HBOC (fréquence de 0,069%). En France, seules 3 patientes sur 6313 cas index analysés dans 5 laboratoires français ayant inclus le gène *CDH1* dans leur panel étaient porteuses d'une altération délétère de ce gène (fréquence de 0,048%).
Conclusion : En raison d'une utilité clinique reconnue dans un contexte HBOC, le gène *CDH1* est inclus dans le panel de gènes HBOC. Le risque de cancer du sein chez les femmes porteuses d'une altération délétère du gène *CDH1* étant considéré comme très élevé, la prise en charge mammaire de ces femmes doit suivre les préconisations du référentiel HAS 2014. Cependant une altération délétère du gène *CDH1* ne sera probablement identifiée que très rarement dans les nouveaux panels HBOC.

P183 : Caractéristiques cliniques et génétiques des phéochromocytomes et paragangliomes chez l'enfant

Auteurs :

Marie de Tersant (1), Laurence Brugières (1), Anne-Paule Gimenez-Roqueplo (2, 3), Brigitte Lacour (4, 5), Louise Galmiche (6), Sabine Sarnacki (7), Daniel Orbach (8), Claire Freyçon (9), Lucile Généré (10), Nadège Corradini (10), Ludovic Manusy (11), sophie Villebasse (12), Yves Pérel (13), Stéphanie Gorde Grosjean (14), Anne-Sophie Defachelles (15), Virginie Gandemer (16), Odile Minckes (17), Sophie Dumoucel (18), Natacha Entz-Werle (19), Claire Berger (20), Nicolas Sirvent (21)

1. Département de Cancérologie de l'Enfant et de l'Adolescent, Institut Gustave Roussy, Villejuif, France
2. Service de Génétique, Hôpital Européen Georges Pompidou, paris, France
3. INSERM U970, INSERM, Paris, France
4. Registre National des Tumeurs Solides de l'Enfant, université de lorraine, Vandoeuvre, France
5. Registre National des Cancers de l'Enfant, CRESS EQ7, UMR-S 1153, INSERM, Paris, France
6. Anatomie Pathologique, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France
7. Chirurgie Pédiatrique et UMR-1163 INSERM , Hôpital Necker Enfants-Malades, Paris, France
8. Département de pédiatrie adolescent jeune adulte, Institut Curie, Paris, France
9. Immuno-hémato-oncologie pédiatrique , Centre Hospitalier Universitaire Grenoble Alpes, Grenoble, France
10. Institut d'Hématologie et d'oncologie pédiatrique, Institut d'Hématologie et d'oncologie pédiatrique, Lyon, France
11. Service d'hémato-oncologie pédiatrique, CHU de Nancy - Hôpital de Brabois, Nancy, France
12. service de génétique oncologique, Institut Gustave Roussy, villejuif, France
13. Unité d'Oncologie et Hématologie Pédiatriques, groupe hospitalier Pellegrin, Bordeaux, France
14. Hémato-Oncologie Pédiatrique, CHU de Reims, reims, France
15. Unité d'Oncologie Pédiatrique, Centre Oscar Lambert, Lille, France
16. Hémato-Oncologie Pédiatrique, CHU de Rennes, Rennes, France
17. Hémato-Immuno-Oncologie Pédiatrique, CHU de Caen, Caen, France
18. Hématologie et Oncologie Pédiatrique, CHU de Nantes, Nantes, France
19. Onco-Hématologie Pédiatrique, Hôpitaux Universitaire de Strasbourg, Strasbourg, France
20. Hématologie et Oncologie Pédiatrique, CHU de Saint-Etienne, St Etienne, France
21. Onco-Hématologie Pédiatrique, CHU de Montpellier, Montpellier, France

Mots clefs : pheochromocytoma, paraganglioma, pediatric, genetic, SDHB

Résumé :

Purpose: The objectives of our multicentric retrospective study were to assess the outcome of pediatric patients with pheochromocytoma and paraganglioma (PPGL), managed in French oncological pediatric centers, and the impact of PPGL predisposition syndromes on the disease.
Methods: All patients less than 18 years of age diagnosed with PPGL in France between 2000 et 2017 were eligible. They were identified through the National Register of Solid Tumors of the Child (RNTSE). In addition, all centers of the French Society of Pediatric Oncology were contacted, as well as the French registry of SDH-related hereditary paraganglioma (PGL.R), to search for cases that might have not been registered in the RNTSE.
Results: 147 patients were eligible and 79, for whom data could be collected, were enrolled. 38 patients had a pheochromocytoma, and 41 a paraganglioma at first diagnosis. Median age at diagnosis was 13 years. Nine patients suffered from a metastatic PPGL at diagnosis and 70 had unique tumor. The median follow-up was 46 months. Twenty-two patients experienced a new event during follow-up. Five developed a second PPGL, and 17 recurred on site of the first surgery. 13 patients with localized PPGL at initial staging developed local recurrence (9 patients) or metastases (4 patients). 7 patients had 2 or more metastatic relapses. Four patients died from their metastatic disease. Overall survival was assessed to 94% [88%-99%] at 5 years, and event-free survival was respectively 79% [69%-89%] at 3 years and 64% [52%-79%] at 5 years after first diagnosis. A genetic variation in one PPGL susceptibility gene was identified in 48 (73%) out of the 65 patients who underwent genetic testing. A pathogenic mutation (21 on *SDHB* gene, 12 on *VHL,* 2 on *RET*, 2 on *HIF2A* and 1 on *NF1*) has been diagnosed in 38 patients and a variant of unknown significance reported in 10. Eight patients (50%) among the 16 with a metastatic PPGL carried a mutation, 5 (62%) on *SDHB.* Incidence of new events in patients with *SDHB* mutation (8/21, p:0.05) was significantly higher to those in patients carrying mutations in a non-*SDHB* gene (4/27).
Conclusion: Pheochromocytoma and paraganglioma in children are strongly associated with a genetic predisposition. Genetic testing at initial diagnosis should be encouraged because the knowledge of genetic status, especially *SDHB* one, will be important for management and long-term follow-up of affected children.

P184 : Syndrome de CLOVES : élargissement du spectre phénotypique

Auteurs :

Fairouz KORAICHI (1), Pierre VABRES (2), Virginie CARMIGNAC (3), Paul KUENTZ (4), Isabelle HAEGY (5), Antoine PINTON (6), Robert CARLIER (7), Laurence FAIVRE (8), Dominique P. GERMAIN (6, 9)

1. Génétique Médicale, AP-HP - Hôpitaux Universitaires Paris Ile de France Ouest, Garches, France
2. Dermatologie, CHU de Dijon, Dijon, France
3. Génétique Médicale, CHU de Dijon, Dijon, France
4. Génétique Biologique, CHU de Besançon, Besançon, France
5. Réanimation pédiatrique, APHP- Hôpitaux Universitaires Paris Ile de France Ouest, Garches, France
6. Génétique Médicale, APHP - Hôpitaux Universitaires Paris Ile de France Ouest, Garches, France
7. Imagerie Médicale, APHP - Hôpitaux Universitaires Paris Ile de France Ouest, Garches, France
8. Fédération Hospitalo-Universitaire Médecine Translationnelle et Anomalies du Développement (TRANSLAD), CHU de Dijon, Dijon, France
9. Centre de compétence des anomalies du développement et syndromes malformatifs, APHP - Hôpitaux Universitaires Paris Ile de France Ouest, Garches, France

Mots clefs : Syndrome de CLOVES, PIK3CA, mosaïque, conseil génétique.

Résumé :

Le syndrome de CLOVES (*Congenital Lipomatous Overgrowth, Vascular malformations, and Epidermal nevi Syndrome*) est un syndrome malformatif sporadique causé par des mutations en mosaïque du gène *PIK3CA* et caractérisé par une hypertrophie somatique asymétrique, des lipomes, des malformations vasculaires et des naevi épidermiques.
Cas clinique : une jeune patiente de 13 ans fut admise dans notre service de réanimation pédiatrique à la suite d'une chirurgie pour scoliose sévère d'étiologie inconnue. Depuis l'âge de 3 mois elle présentait des masses lipomateuses de la région thoracique droite postérieure, la région lombaire droite et la région fessière droite ainsi qu'une scoliose progressive s'aggravant depuis l'âge de 6 mois et une insuffisance respiratoire obstructive et restrictive. Un conseil génétique fut demandé par la famille.
Résultats : l'examen clinique montra plusieurs masses lipomateuses hémicorporelles, des malformations vasculaires et des naevi épidermiques en faveur du diagnostic de syndrome de CLOVES. Deux biopsies de peau pratiquées en peau lésée furent cultivées à confluence. Le génotypage du gène *PIK3CA* fut réalisé sur l'ADN extrait des cultures cellulaires confluentes et révéla une mutation faux sens dans l'exon 10 du gène (p.Glu542Lys). La mutation fut considérée pathogène au vu des données de la littérature et des analyses *in silico*. La mutation fut retrouvée dans respectivement 30% et 39% de l'ADN extrait de deux cultures cellulaires.
Discussion: Notre observation confirme et élargit le spectre phénotypique du syndrome de CLOVES en rapportant outre les lipomes, les malforations vascularies, les naevi épidermques, une moelle attachée, une syringomyélie et une scoliose sévère et une insuffisance respiratoire obstructive et restrictive qui ne fut que partiellement améliorée par la chirurgie de la scoliose. PIK3CA est une kinase essentielle pour la croissance et le métabolisme cellulaire. S'il n'a pas à ce stade été rapporté d'augmentation de la fréquence des tumeurs malignes associées, il est intéressant de noter que notre patiente était porteuse de très nombreux naevi naevocellulaires. Une meilleure connaissance de l'histoire naturelle des syndromes hypertrophiques liés à *PIK3CA* permettra une évaluation rigoureuse de l'efficacité des essais thérapeutiques.

P185 : Nouvelle interface pour le calcul du risque de prédisposition et du risque tumoral mammaire basé sur l'histoire familiale

Auteurs :

Alexandra Lefebvre (1), Antoine de Pauw (2), Marine Marine Le Mentec (2), Anaïs Dupré (2), Olivier Bouaziz (3), Dominique Stoppa-Lyonnet (4, 5), Grégory Nuel (1)

1. LPMA (UMR CNRS 7599), UPMC, Paris, France
2. Service de génétique, Institut Curie, Paris, France
3. MAP5 (UMR CNRS 8145), Université Paris Descartes, Paris, France
4. INSERM U830, Institut Curie, Paris, France
5. Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, Paris, France

Mots clefs : analyse de survie; transmission mendélienne; algorithme d'Elston-Stewart; réseaux bayésiens; modèle de Claus-Easton

Résumé :

Introduction. La prise en charge d'une femme présentant une histoire personnelle et/ou familiale de cancer du sein et/ou de l'ovaire débute par la reconstitution de son arbre généalogique sur lequel sont rapportés les cas de cancer, les âges aux diagnostics, les localisations tumorales mais aussi les personnes indemnes de la famille (Family History — FH). C'est le plus souvent sur la base de cette FH que la décision de proposer une analyse génétique est prise et que des recommandations de surveillance pour le cas index et ses apparentés sont établies. À l'Institut Curie, la sévérité de l'histoire familiale est évaluée depuis plus de 20 ans sur la base d'un calcul de risque de prédisposition en utilisant le modèle de Claus-Easton (Claus et al., 1991, Easton et al., 1993). Ce modèle est mendélien et fait l'hypothèse d'une transmission autosomique dominante d'un allèle pathogène rare et très pénétrant. Il est implémenté sous la forme d'un jeu de paramètres pour le logiciel LINKAGE (programme DOS). L'utilisateur simplifie la FH en éliminant les individus considérés non informatifs, puis la saisie manuellement dans un fichier pedigré (.ped). Enfin, un programme DOS interactif (options à choisir) permet d'obtenir le calcul de risque de prédisposition pour un individu d'intérêt. La procédure complète requiert en moyenne 15min de travail par famille.
Méthodes. Nous présentons une nouvelle interface clinique implémentant le modèle de Claus-Easton qui permet d'obtenir les mêmes résultats dans des temps beaucoup plus courts. De plus, notre nouvel outil propose de nombreuses innovations: 1) saisie et modification de la FH à travers une interface web (HTML/Javascript) interactive; 2) génération d'un rapport contenant une représentation graphique du pédigrée et les résultats des calculs sous forme de diagrammes en bâtons et de tableaux; 3) implémentation de la version la plus récente de l'algorithme d'Elston-Stewart (Totir et al., 2009) qui permet le calcul simultané des risques de prédisposition pour l'ensemble des individus de la famille; 4) calcul du risque tumoral mammaire en tenant compte ou non du risque compétitif avec la mort (Nuel et al. 2017).
Résultats. Le nouvel outil est validé sur un ensemble de familles de référence et reproduit exactement les résultats de l'ancienne implémentation. Dans la pratique quotidienne, la nouvelle interface montre de légères différences avec l'approche usuelle en raison de l'élagage de la FH qui était communément pratiquée et qui n'a désormais plus lieu d'être. Les conseillers en génétique qui utilisent cet outils pointent également un gain de temps réel.
Conclusion. Les perspectives de ce travail incluent le calcul de risques complexes (prédisposition pour un groupe, risque familial, modèles multi-états, etc.) ainsi que l'implémentation de nouveaux modèles (BOADICEA, BRCApro, Claus-Easton continu) et l'extension à d'autres localisations (cancer colorectal et syndrome de Lynch, CMMRD, gliomes et P53, etc.).

P186 : Epimutation SDHC : un nouveau mécanisme mutationnel à l'origine des paragangliomes et tumeurs gastrointestinales stromales SDHx-dépendants

Auteurs :

Alexandre Buffet (1, 2), Nelly Burnichon (3), Laurène Ben Aim (1), Isabelle Bourdeau (4), Delphine Bonnet (5), Laurence Brugières (6), Judith Favier (1), Anne-Paule Gimenez-Roqueplo (3, 1)

1. INSERM, UMR970, Paris-Centre de Recherche Cardiovasculaire, Paris, France
2. Service d'Endocrinologie, Hôpital Larrey, CHU de Toulouse, Toulouse, Toulouse, France
3. Service de Génétique, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris, France
4. Division of Endocrinology, Department of Medicine and Research Centre, Centre hospitalier de l'Université de Montréal (CHUM), Montréal, Montreal, Canada
5. Service de Médecine Interne, Pole Digestif, Centre Hospitalier Universitaire de Toulouse, Toulouse, France
6. Département de Cancérologie de l'enfants et de l'adolescents, Gustave Roussy Cancer Campus, Villejuif, France

Mots clefs : épimutation, SDHC, paragangliome, tumeur gastrointestinale stromale

Résumé :

L'immunohistochimie anti-SDHB (IHC SDHB) est un outil robuste pour orienter vers une mutation sur l'un des gènes *SDHx* (*SDHA, SDHB, SDHC, SDHD*) dans les paragangliomes (PGL) ou les tumeurs gastrointestinales stromales (GIST)[1]. Néanmoins chez certains patients aucune mutation constitutionnelle ou somatique *SDHx* n'est mise en évidence, même en utilisant les nouvelles techniques de séquençage à haut débit (NGS) permettant d'explorer l'ensemble des gènes de prédisposition et en particulier les gènes *SDHx*, alors que l'IHC SDHB est négative dans leur tumeur. Une analyse de méthylome a révélé des épimutations (hyperméthylation du promoteur) du gène *SDHC* chez des patients avec GIST et/ou PGL[2]. Notre objectif était de développer une méthode permettant de détecter une épimutation *SDHC* en routine diagnostique puis de valider l'implication de ce nouveau mécanisme mutationnel en clinique
Nous avons mis au point l'analyse par pyroséquençage de 7 îlots CpG du promoteur du gène *SDHC* puis étudié l'ADN tumoral préalablement traité au bisulfite de 17 tumeurs de patients différents (13 PGL isolés, 1 GIST isolé, 2 dyades de Carney Stratakis associant PGL et GIST et une triade de Carney associant GIST, PGL et chondrome pulmonaire), qui avaient un test génétique du PGL par NGS + MLPA négatif[3] et une tumeur SDHB immuno-négative et SDHA positive, et de 15 tumeurs contrôles. Nous avons détecté une épimutation *SDHC* dans le GIST isolé, les deux dyades PGL + GIST et la triade, dont une à l'état de mosaïque constitutionnelle. Nous avons aussi confirmé l'inactivation bi-allélique de *SDHC* dans 3 cas sur 4. Ainsi, la recherche d'une épimutation du gène *SDHC* par pyroséquençage est indiquée après un test génétique par NGS négatif et une immunohistochimie tumorale SDHB négative.

1. Papathomas TG. Mod Pathol 2015;28:807
2. Killian JK. Cancer Discov 2013;3:648
3. Toledo RA, Burnichon N. Nat Rev Endocrinol 2017;13:233

P187 : Contribution majeure du gène ZMYND11 dans le phénotype d'un patient avec translocation cryptique constitutionnelle (46,XY, der(10)t(10;17)(p15.3;q25.3) de novo

Auteurs :

cindy colson (1), sacha weber (2), Nicolas Gruchy (3), herve mitre (4), joseph toulouse (5), Peggy dupont-Chauvet (6)

1. génétique clinique, CHU Caen, caen, France
2. génétique médicale, CHU Caen, caen, France
3. cytogénétique, CHU caen, caen, France
4. génétique moléculaire, CHU Caen, caen, France
5. pédiatrie, CHU caen, caen, France
6. pédiatrie, Cabinet privé cardiopédiatrie , Caen, France

Mots clefs : deletion 10p15.3, duplication 17q25.3, ZMYND11, DI syndromique, translocation

Résumé :

La délétion 10p15.3 et la duplication 17q25.3 sont responsables de déficit intellectuel (DI) syndromique. Jusqu'à présent, vingt-trois microdélétions en 10p15.3 et seulement cinq microduplications en 17q25.3 isolées ont été décrites. La région 10p15.3 contient le gène *ZMYND11*. Huit patients avec variants pathogènes entrainant une perte de fonction de *ZMYND11* ont été rapportés avec DI, épilepsie, trouble du spectre autistique, hypotonie et dysmorphie faciale. Une étude cytogénétique de routine a détecté une nouvelle translocation constitutionnelle cryptique déséquilibrée (46,XY,der(10)t(10;17)(p15.3;q25.3)) chez un garçon avec retard psychomoteur, malformation cardiovasculaire et dysmorphie. Ce case report confirme l'implication du gène *ZMYND11* en déficience intellectuelle syndromique et laisse suggérer qu'il est le principal gène candidat du syndrome microdélétionnel 10p15.3. Les délétions complètes de *ZMYND11* paraitraient moins sévères que les variants de perte de fonction de ce gène.

P188 : Un nouveau gène de prédisposition au mélanome situé sur le locus 1p36.

Auteurs :

BENFODDA Meriem (1, 2), Steven GAZAL (3), Vincent DESCAMPS (4), Nicole BASSET-SEGUIN (5), Martine BAGOT (5), Lydia DESCHAMPS (6), Luc THOMAS (7), Roberto ZANETTI (8), Lidia SACCHETTO (8, 9), Bernard GRANDCHAMP (1), Armand BENSUSSAN (10), Nadem SOUFIR (11, 2)

1. Département de génétique, Hôpital Bichât Claude Bernard, Paris, France
2. Centre de Recherche sur la peau, Inserm U976, Hôpital Saint Louis, Paris, France
3. Biostatistique, Hôpital Bichât Claude Bernard, Paris, France
4. Service de Dermatologie , Hôpital Bichât Claude Bernard, Paris, France
5. Service de Dermatologie , Hôpital Saint Louis, Paris, France
6. Service d'anatomie pathologique, Hôpital Bichât Claude Bernard, Paris, France
7. Service de Dermatologie, Centre Hospitalier Lyon SUD, Lyon, France
8. Piedmont Cancer Registry, CPO, Torino, Italie
9. 9Laboratory of Cancer Genomics, Fondazione Edo ed Elvo Tempia, Biella, Italie
10. U976: centre de recherche sur la peau, Hôpital Saint Louis, Paris, France
11. Département de génétique , Hôpital Bichât Claude Bernard, Paris, France

Mots clefs : APITD1, Mélanome, Prédisposition

Résumé :

Introduction:
Le mélanome (MM) est une tumeur de pronostic redoutable en cas de diagnostic tardif, son incidence double environ tous les 10 ans dans les pays occidentaux. Il existe des facteurs de risques cliniques, environnementaux et génétiques. Les facteurs génétiques restant en majorité inconnus, nous avons réalisé deux séries d'exomes chez des patients à haut risque de MM afin d'expliquer l'héritabilité manquante dans le MM.
Matériel et Méthodes:
Une première série de séquençage d'exomes (Agilent V5, profondeur moyenne de 50X) a été réalisée sur l'ADN constitutionnel de 32 patients atteints de MM : 13 MM familiaux (ii) 6 MM multiples sporadiques. Une étude de replication a été ensuite réalisée sur une série d'exomes de 28 patients (11 MM familiaux et 8 MM multiples), et nous n'avons retenu que les gènes mutés dans les 2 séries. Le filtrage des variants, réalisé sur la plateforme Polyweb a porté en priorité sur les variants non-sens, décalant le cadre de lecture, d'épissage, et non-synonymes dont la fréquence allélique était inférieure à 1%. Une étude de réplication des gènes sélectionnés a été conduite chez 536 patients atteints de MM (346 MMs familiaux et 190 MMs multiples) et 767 contrôles caucasiens. L'analyse statistique comparait le nombre de variant présent dans les 2 groupes.
Résultats:
Les deux séries d'exomes ont permis l'identification de deux variants sur le gène *APITD1* : une mutation frameshift (p.Gln142Pro.fs*29) ségrégeant dans une famille, et un variant rare faux-sens (p.E137K) présent chez 3 patients atteints de MM. Le séquençage de l'ensemble du gène *APITD1* montrait la présence de 2 mutations frameshifts chez 5 patients, et deux variants faux sens, p.E137K présent chez 9 patients (6 familiaux et 3 multiples) et 3 contrôles, et p.R87M présent chez 2 patients . Les variants tronquants d'*APITD1* étaient fortement associés au risque de MM (OR 20.14 (3.48-149.78), de même les variants faux sens (OR 4.22(1.98-8.90). Une perte d'hétérozygotie d'*APITD1* avec délétion d'un allèle a été constatée chez un patient portant le variant faux-sens (p.E317K).

Discussion:
Le gène *APITD1* (apoptosis-inducing, TAF9-like domain 1) est localisé en 1p36.22, locus identifié comme associé à la prédisposition au MM. La protéine APITD1 est liée physiquement au complexe de Fanconi (Fa core) impliqué dans la réparation des dommages de l'ADN et le maintien de l'intégrité du génome. Elle intervient également dans l'assemblage du kinetochore, la progression mitotique et la ségrégation des chromosomes. APITD1 est connue aussi pour son rôle de suppresseur de tumeur dans les neuroblastomes où elle est exprimée à des niveaux très faibles.
Conclusion:
Ce travail nous a permis de démontrer qu'*APITD1* est un nouveau gène de prédisposition au mélanome, des études de réplications dans d'autres populations sont en cours de réalisation, ainsi que des études fonctionnelles.

P189 : Implication du polymorphisme C667T du gène MTHFR dans les thromboses des patients JAK2-V617F-négatif

Auteurs :

Hind DEHBI (1, 2), walaa MANSOURY (3), kaltoum AIT BOUJMIA (3), sellama nadifi (3)

1. Laboratoire de génétique médicale, CHU IBN ROCHD, casablanca, Maroc
2. Laboratoire de pathologies cellulaires et moléculaires, faculté de medecine et de pharmacie de casablanca-université Hassan II. casablanca, casablanca Maroc., Maroc
3. Laboratoire de pathologies cellulaires et moléculaires, faculté de medecine et de pharmacie de casablanca-université Hassan II. casablanca, casablanca, Maroc

Mots clefs : Syndromes myéloprolifératifs, mutation JAK2-V617F, gène MTHFR, polymorphisme C667T, PCR-RFLP.

Résumé :

Les syndromes myéloprolifératifs désignent un groupe d'hémopathies malignes, caractérisées par une prolifération clonale des cellules myéloïdes. La polyglobulie de Vaquez (PV), la thrombocytémie essentielle (TE) et la myélofibrose primitive (MF), constituent les principales pathologies de ce groupe, et la mutation *JAK2-V617F*, récemment découverte en 2005, en est un important marqueur de diagnostic. Cette mutation est présente dans 95% de polyglobulie de Vaquez, 50-70% de thrombocytémie essentielle et environ 50% de myélofibrose primitive.
Dans le but de pouvoir expliquer l'épisode thrombotique chez 40 patients diagnostiqués *JAK2-V617F*-négative, nous avons exploré l'éventuelle existence de la mutation du polymorphisme *C667T* du gène *MTHFR*, par la technique PCR-RFLP.
Il s'agit d'un travail regroupant une étude pro- et rétrospective, réalisée sur une période de trois années, allant de 2014 à 2016. Les données ont été colligées à partir des registres du Laboratoire de Génétique et Pathologie Cellulaire et Médicale de la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Casablanca.
Nos résultats ont montré que les fréquences des génotypes homozygote sauvage (CC), hétérozygote muté (CT), et homozygote muté (TT) du polymorphisme *C667T* du gène *MTHFR* étaient respectivement de 42.5%, 47.5% et 10%; l'allèle C, étant plus fréquent, (66.25%) par rapport à l'allèle T (33.75%).
Retrouvé chez 57.5 % des patients de l'échantillon étudié, le polymorphisme *C667T* du gène *MTHFR* semble être associé aux événements thrombotiques observés chez ces patients.

Implication du polymorphisme C667T du gène MTHFR dans les thromboses des patients JAK2.docx

P190 : Etude de la mutation G20210A du gène de la prothrombine dans les Syndromes myéloprolifératifs JAK2-V617F-négatif

Auteurs :

Hind DEHBI (1, 2), yassine OUJJIR (3), kaltoum AIT BOUJMIA (3), sellama nadifi (3)

1. Laboratoire de génétique médicale, CHU IBN ROCHD, casablanca, Maroc
2. Laboratoire de pathologies cellulaires et moléculaires, faculté de medecine et de pharmacie de casablanca-université Hassan II. casablanca, casablanca Maroc., Maroc
3. Laboratoire de pathologies cellulaires et moléculaires, faculté de medecine et de pharmacie de casablanca-université Hassan II. casablanca, casablanca, Maroc

Mots clefs : Syndromes myéloprolifératifs, mutation JAK2-V617F, gène de la prothrombine, mutation G20210A, PCR-RFLP.

Résumé :

Les Syndromes myéloprolifératifs (SMP) sont une prolifération clonale dérégulée des cellules souches hématopoïétiques. L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) y a regroupé en 2008 la leucémie myéloïdes chroniques (LMC), La polyglobulie de Vaquez (PV), la thrombocytémie essentielle (TE) et la myélofibrose primitive (MFP). Les SMP ont plusieurs étiologies comme l'exposition à des substances toxiques, une chimiothérapie anticancéreuse, certaines origines virales ou un dérèglement génétique tel que la mutation JAK2V617F au niveau du gène codant pour la protéine Jakus Kinase 2 (JAK2). Dans le présent travail, nous avons étudié l'implication de la mutation G20210A du gène de la prothrombine (Facteur II) dans la genèse des thromboses dans les SMP sans la mutation JAK2V617F chez 40 patients de la population Marocaine par la technique PCR-RFLP. Il s'agit d'une étude pro- et rétrospective, réalisée sur une période de trois années, allant de 2014 à 2016. Les données ont été colligées à partir des registres du Laboratoire de Pathologie Cellulaire et moléculaire de la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Casablanca.
Nos résultats montrent que la fréquence des génotypes sauvage G/G, hétérozygote G/A, et muté A/A était respectivement de 63,33%, 20% et 16,66%. La fréquence de l'allèle muté 20210A était de 26,66% chez la population d'étude, contre 73,33% pour l'allèle sauvage 20210G et une prédominance féminine de l'allèle muté.
Une étude avec un échantillon plus large est nécessaire pour confirmer ces résultats préliminaires.

Etude du polymorphisme G20210A du gène de la prothrombine dans les Syndromes myéloprolifératifs JAK2.docx

P191 : Nanostring, CGH-array, FISH : quelle est la meilleure technique pour détecter les anomalies chromosomiques de nombre dans le myélome ? Etude pilote de 24 patients.

Auteurs :

Béatrice Grange (1, 2), Michael Degaud (1), Eudeline Alix (2), Jonathan Lopez (3, 4), Damien Sanlaville (2, 5), Evelyne Callet-Bauchu (1, 4), Pierre Sujobert (1, 4)

1. Laboratoire d'hématologie, Centre Hospitalier Lyon Sud, Hospices civils de Lyon, Pierre Bénite, France
2. Service de Génétique, Groupement Hospitalier Est, Hospices civils de Lyon, Bron, France
3. Laboratoire de Biochimie et Biologie moléculaire, Centre Hospitalier Lyon Sud, Hospices civils de Lyon, Pierre Bénite, France
4. Centre de Recherche en Cancérologie de Lyon, INSERM U1052, CNRS UMR 5286, Université de Lyon, Lyon, France
5. INSERM, U1028, CNRS, UMR5292, GENDEV Team, Université de Lyon, Villeurbanne, France

Mots clefs : Nanostring, CGH-array, FISH, myélome, pronostic, aneuploïdie

Résumé :

Objectif : Le myélome représente une hémopathie maligne dans laquelle les anomalies chromosomiques de nombre sont pronostiques (chromosomes 1, 13, 17) et qu'il convient donc d'identifier afin d'optimiser la prise en charge thérapeutique des patients. Ces anomalies sont habituellement détectées par une technique d'hybridation *in situ* fluorescente (FISH). Cependant, cette technique comporte des limites (caractère ciblé, quantité de matériel nécessaire (plasmocytes triés), coût des réactifs, temps d'analyse), qui rendent nécessaires l'utilisation de techniques cytogénétiques alternatives. Le caryotype conventionnel étant souvent pris en défaut du fait des difficultés de culture des plasmocytes, les techniques de Comparative Genomic Hydrization (CGH)-array et de Nanostring® semblent donc intéressantes dans cette indication.
Matériel et méthodes : Une série de plasmocytes triés provenant de 24 patients a été analysée pour rechercher des anomalies chromosomiques de nombre par CGH-array (puces Agilent® 60K), par Nanostring® (29 loci répartis sur l'ensemble des chromosomes et repérés par 3 sondes chacun) ainsi qu'en FISH ciblant le chromosome 17 (sonde Metasystems® *NF1*/*TP53* [17q11.2/17p13.1]). Le diagnostic de myélome a été confirmé sur l'analyse morphologique et les populations médullaires ont été triées (tri positif CD138 par séparation immunomagnétique - RoboSep Stemcell®). Une analyse médico-économique a été effectuée, comparant pour chaque technique les performances (multiplexage, délai de rendu) et les coûts (réactifs et temps technique technicien et biologiste).
Résultats : Concernant les aneuploïdies du chromosome 17, les résultats obtenus en CGH-array sont concordants avec ceux obtenus en FISH (technique de référence à l'heure actuelle) pour 20 patients/24. Les discordances observées sont expliquées par la présence de populations sous-clonales non détectables par la technique de CGH-array compte tenu de leur trop faible taille (<10%). Les résultats obtenus avec la technique Nanostring® sont actuellement en cours d'évaluation. La comparaison des performances des différentes approches sera présentée lors des Assises de Génétique.
Discussion : La CGH-array représente une technique « whole genome » sensible, même si son temps technique et son coût restent importants (2,5 fois supérieur à la technique Nanostring® en coût réactifs). De plus, l'identification de sous-populations clonales de faible pourcentage semble difficile. La FISH permet une détection très sensible des aneuploïdies, mais reste une technique ciblée. Actuellement, les recommandations des sociétés savantes demandent de rechercher un nombre croissant d'aneuploïdies, ce qui représente une contrainte non négligeable en termes de coûts techniques (réactifs/personnel).
Conclusion : L'objectif de notre étude est de comparer les différentes techniques actuellement disponibles (de référence et aussi innovantes) dans l'identification des anomalies chromosomiques de nombre pronostiques du myélome.

Abstract Assises Genetique Beatrice Grange.docx

P192 : Focus sur le suivi des patients porteurs d'une mutation délétère VHL

Auteurs :

Tatiana KOGUT-KUBIAK (1), Isabelle RAINGEARD (2), Jean RIBSTEIN (3), Claire JEANDEL (4), Luc BAUCHET (5), Claudie ELIAOU MALRIEU (6), Pascal PUJOL (1), Stéphane RICHARD (7), Isabelle COUPIER (1)

1. oncogénétique, Hôpital Arnaud de Villeneuve, MONTPELLIER, France
2. Endocrinologie, Hôpital Arnaud de Villeneuve, MONTPELLIER, France
3. Médecine Interne, Hôpital Arnaud de Villeneuve, MONTPELLIER, France
4. Pédiatrie, Hôpital Arnaud de Villeneuve, MONTPELLIER, France
5. Neurologie, Hôpital Arnaud de Villeneuve, MONTPELLIER, France
6. Ophtalmologie, Hôpital Arnaud de Villeneuve, MONTPELLIER, France
7. oncogénétique, Centre PREDIR, LE KREMLIN-BICÊTRE, France

Mots clefs : VHL - Suivi -Surveillance

Résumé :

Les mutations délétères du gène *VHL* prédisposent au syndrome de Von Hippel-Lindau (VHL). Ce syndrome favorise : le risque de cancer du rien à cellules claires, les hémangioblastomes du cervelet, de la rétine et de la moelle épinière, les phéochromocytomes, ainsi que les tumeurs et kystes du pancréas. Il s'agit d'une maladie rare (1/36000 naissances), pour laquelle l'INCa a labellisé le centre PREDIR [Réseau National de Référence pour Cancers Rares de l'Adulte PREDIR (PREDIspositions aux tumeurs du Rein)]. Le réseau PREDIR comporte un Centre Expert National et six Centres Experts Interrégionaux. Etant centre interrégional, nous nous sommes proposés de faire un état des lieux dans notre centre sur le suivi des patients porteurs d'une mutation *VHL*.
Le suivi des patients est bien standardisé et comprend :

- Chez l'enfant à partir de l'âge de 5 ans, annuellement : une échographie abdominale, un examen du fond d'œil dilaté ainsi qu'un dosage des métanéphrines urinaires ou plasmatiques.
- A partir de l'âge de 15 ans, ajout d'une première IRM de l'encéphale et de la moelle à renouveler tous les 2 ans.
- A partir de l'âge de 18 ans, ajout d'une première IRM abdominale, puis alternance annuelle avec une échographie abdominale.

Notre file active de patients porteurs d'une mutation *VHL* sur le CHU de Montpellier est de 25 adultes et 7 enfants (soit 32 patients).
Afin d'établir l'état des lieux du suivi de ces patients, nous leur avons adressé un questionnaire par courrier. Ce questionnaire interrogeait sur les types d'examens de surveillance, la fréquence et le prescripteur de ces examens. Nous envisagions d'organiser une journée d'échange en octobre 2017 entre les patients leurs proches et les professionnels. Nous leur avons donc également proposé d'être contactés selon leur souhait, par courriel, téléphone et leur avons proposé une nouvelle consultation s'ils le souhaitaient.
Le taux de retour des questionnaires est de 56%. Pour la majorité des patients, la surveillance est conforme aux recommandations de suivi pour l'ensemble des organes à l'exception de la surveillance de la moelle et du cervelet.
Seize patients sur dix-huit ont souhaité être recontacté. Sur ces seize patients, dix ont souhaité une nouvelle consultation. Ces consultations sont actuellement en cours. Cela témoigne de la place importante de la consultation pour le suivi des patients.
La majorité des patients (10/18) souhaite que les examens de surveillance soient regroupés une fois par an. Nous avons mis en place cette organisation, dans la mesure du possible, en collaboration avec le service d'endocrinologie. Ainsi, le médecin référent programme pour les patients adultes trois jours d'hospitalisation. La prise en charge du suivi des enfants est organisée en hôpital de jour de génétique.
Nous présenterons les conclusions de la journée d'échange entre patients et professionnels et proposerons d'ajuster les modalités de suivi des patients (enfants et adultes) porteurs d'une mutation *VHL.*

P193 : Prudence dans l'interprétation des mutations non-sens : le modèle de l'exon 12 du gène BRCA2

Auteurs :

Laëtitia Meulemans (1), Sandrine M. Caputo (2), Hélène Tubeuf (1, 3), Sophie Krieger (1, 4), Aurélie Drouet (1), Marine Guillaud-Bataille (5), Virgine Caux-Moncoutier (2), Mélanie Léone (6), Nadia Boutry-Kryza (6), Joanna Sokolowska (7), Françoise Bonnet-Dorion (8), Françoise Révillion (9), Capucine Delnatte (10), Virginie Guibert (10), Florence Rousselet (7), Sarab Lizard (11), Maud Privat (12), Paul Vilquin (13), Claude Houdayer (2), Thierry Frebourg (1, 14), Alexandra Martins (1), Pascaline Gaildrat (1)

1. Inserm U1245, UNIROUEN, Normandie Université, Centre Normand de Génomique et de Médecine Personnalisée, Rouen, Rouen, France
2. Service de Génétique, Institut Curie et Université Paris Descartes, Paris, France
3. , Interactive Biosoftware, Rouen, France
4. Laboratoire de Biologie Clinique et Oncologique, Centre François Baclesse et Université Caen Normandie, Caen, France
5. Service de Génétique, Institut Gustave Roussy, Villejuif, France
6. Laboratoire de Génétique Constitutionnelle des Cancers Fréquents, Hospices Civiles de Lyon, Lyon, France
7. Service de Génétique, CHU Nancy, Nancy, France
8. Inserm U916, Département de Pathologie, Laboratoire de Génétique Constitutionnelle, Institut Bergonié, Bordeaux, France
9. Unité d'Oncologie Moléculaire Humaine, Centre Oscar Lambret, Lille, France
10. Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU Nantes, Nantes, France
11. Unité de Biologie Moléculaire, Centre Georges-François Leclerc, Dijon, France
12. Département d'Oncogénétique, Centre Jean Perrin, Clermont-Ferrand, France
13. Département de Biopathologie Cellulaire et Tissulaire des Tumeurs, CHU Montpellier, Montpellier, France
14. Département de Génétique, CHU Rouen, Rouen, France

Mots clefs : Forme héréditaire du cancer du sein et de l'ovaire, BRCA2, variations pathogènes, modification de l'épissage en phase

Résumé :

L'interprétation des variations génétiques dans le cadre du diagnostic est un des principaux défis de la génétique médicale moderne et cette question est essentiellement focalisée sur les variations faux-sens. Or d'autres types de variations, telles les mutations non-sens *a priori* délétères, peuvent se révéler non pathogènes parce qu'elles touchent le dernier exon ou une isoforme spécifique. Une autre possibilité est que ces variations ne soient pas délétères parce qu'elles modifient l'épissage et conduisent à un saut d'exon respectant la phase. Afin de tester cette hypothèse, nous avons utilisé comme modèle d'étude l'exon 12 de *BRCA2*, gène majeur de prédisposition au cancer du sein et de l'ovaire. En effet, des travaux récents suggèrent que la délétion en phase de cet exon n'altère pas la fonction de la protéine BRCA2. Dans un premier temps, nous avons sélectionné, à partir de bases de données française et internationales, toutes les variations dans et autour l'exon 12 de *BRCA2* responsables *a priori* de l'apparition d'un codon stop prématuré ainsi que celles localisées au niveau des séquences les plus conservées des sites d'épissage et celles susceptibles d'induire un saut d'exon d'après les prédictions bioinformatiques. Dans un second temps, l'effet sur l'épissage des 40 variations ainsi sélectionnées a été étudié dans un test fonctionnel basé sur l'utilisation de minigènes. Nos travaux révèlent que certaines de ces variations, y compris des mutations de type non-sens, sont à l'origine d'un saut de l'exon 12 en phase. Pour une des mutations de type non-sens, ces données ont pu être confirmées à partir d'une lignée lymphoblastoïde de patiente. Ces résultats préliminaires suggèrent l'existence possible d'un mécanisme de correction, par l'intermédiaire du saut d'exon en phase, de certaines mutations initialement classées pathogènes dans *BRCA2*. Des analyses complémentaires, basées notamment sur la collecte des données génétiques, cliniques, tumorales et familiales des patientes porteuses, sont actuellement en cours afin de réévaluer le caractère pathogène de ce type de variations. Nos travaux soulignent l'importance de l'expertise de l'interprétation pour assurer un diagnostic moléculaire fiable.

Résumé Assises 2017 Meulemans et al.pdf

P194 : Les mutations de splice du gène Myo7A retrouvées chez des familles algériennes

Auteurs :

SAMIA ABDI (1), Mohamed Makrelouf (2), Crystel Bonnet (3), Asma Behlouli (2), Yahia Rous (1), zahida Merad (1), Christine Petit (4), Akila Zenati (2)

1. faculté de medecine , université saad dahleb blida, Blida, Algérie
2. Labo de recherche , CHU BABAELOUED, Alger, Algérie
3. Labo de recherche , Institut de la vision, Paris, France
4. Labo de recherche , Institut de la vision,institut Pasteur, Paris, France

Mots clefs : Syndrome de Usher de type 1 , Myo7A, mutation de splice

Résumé :

Le syndrome de Usher de type 1 se caractérise par une surdité neurosensorielle profonde et une retinite pigmentaire qui apparait dans la premiere décade de la vie
Une etude moleculaire est faite sur l'ADN de patients appartenant à des familles algeriennes atteintes de syndrome de usher de type 1. Parmi plusieurs mutations retrouvées, deux mutations de splice ont été retrouvées chez 2 familles algeriennes consanguines.Il s'agit de la mutation c.2283-1G > T retrouvée chez 3 familles consanguines et la mutation c.470+1G > A. retrouvée chez 3 membres d'une meme famille.
Le diagnostic genetique du syndrome de Usher est essentiel pour une prise en charge précoce du double handicap sensoriel.Pour cela une coopération entre cliniciens et biologistes est indispensable pour aider cette catégorie de patients

P195 : PALB2 : Nouveau gène majeur de prédisposition du cancer du sein

Auteurs :

Ghizlane Jabrane (1), Nadia Serbati (2), Hind Dehbi (2), Sellama Nadifi (2)

1. Laboratoire de génétique et de pathologie moleculaire, Université Hassan II Casablanca, Casablanca, Maroc
2. Laboratoire de génétique et de pathologie moleculaire, Université Hassan II , Casablanca, Maroc

Mots clefs : cancer du sein, gène PALB2, prédispositions génétique

Résumé :

Le cancer du sein est le cancer le plus fréquent chez la femme et représente aussi sa première cause de décès.
C'est une maladie génétique qui dans la majorité des cas est acquise par des altérations très variées du génome. Cependant, certaines mutations sont présentes dès la conception et expliquent les prédispositions génétiques aux cancers.
A côté des gènes BRCA1/BRCA2, Le gène *PALB2* a été identifié en 2007 comme gène de prédisposition au cancer du sein, et il a été placé avec un niveau de risque similaire au gène *BRCA2 ayant* un risque cumulé de cancer du sein de 14% à 50 ans et 35% à 70 ans.
L'objectif de ce travail est d'exposer les nouveautés génétiques et les dernières recommandations du Groupe Génétique du Cancer sur la prédisposition du gène PALB2 au cancer du sein, qui revêt ainsi un aspect diagnostique, pronostique et aussi théranostique.

PALB2 résumé.docx

P196 : GI(P)3SI : Gestion Intégrée des Prescriptions, Prélèvements et Projets Scientifiques Innovants à l'Unité de génétique somatique de l'Institut Curie

Auteurs :

Laetitia TRAMARD (1), Laura LE ROUX (1), Virginie MARY (1), Stelly BALLET (1), Stéphanie REYNAUD (1), Delphine LEQUIN (1), Khadija AIT RAIS (1), Christine BOURNEIX (1), Mégane BOUVET (1), Delphine GUILLEMOT (1), Laetitia MAILLOT (1), Fatoumata SIMAGA (1), Olivier DELATTRE (1), Eve LAPOUBLE (1), Gaelle PIERRON (1)

1. Génétique Somatique, Institut Curie, PARIS, France

Mots clefs : Sarcomes pédiatriques, Biothèque, Qualité, Identito-vigilance, Annotations Biologiques, Diagnostic, Pronostique, Théranostique, Recherche translationnelle.

Résumé :

L'Unité de Génétique Somatique de l'Institut Curie participe au diagnostic moléculaire et aide à la classification de certains types tumoraux favorisant une meilleure prise en charge du patient (600 dossiers/an en moyenne) tout en s'inscrivant dans une démarche active de recherche translationnelle et clinique innovantes. La spécificité de l'Unité repose sur l'expertise acquise dans la caractérisation des altérations de sarcomes et tumeurs pédiatriques rares, et implique une centralisation des prélèvements, un circuit clair des échantillons et des réunions de concertation pluridisciplinaires associant des acteurs rompus à ce type d'analyses.
Centre de référence national (80% de prélèvements externes), l'Unité a pu constituer en près de 20 ans une tumorothèque recensant près de 15000 spécimens tumoraux issus de plus de 14000 patients et 9700 échantillons constitutionnels. Faire vivre cette collection unique de prélèvements repose sur une activité de gestion de ressources biologiques soutenue et de grande qualité réalisée par du personnel dédié (> 70000 produits dérivés annotés et qualifiés ADN, ARN, ctDNA, PDX…).
Dans ce contexte, le pôle GI(P)^{3}SI, pour Gestion Intégrée des Prescriptions, Prélèvements et Projets Scientifiques Innovants, a été créé afin d'optimiser les circuits, la centralisation, les étapes pré-analytiques (prétraitements, recueil du % de cellules tumorales, extraction, dosage et qualification d'acides nucléiques…), mais aussi l'annotation clinico-biologique et l'archivage des prélèvements à visée diagnostique, pronostique, théranostique ou dédiés à des essais cliniques ou de recherche translationnelle.
Garant de la conformité, de la traçabilité et de la qualité de ses activités au regard des cadres règlementaires et juridiques (Démarche Qualité ISO15189 COFRAC, Consentement Institutionnel, Déclaration CNIL des collections…), le pôle GI(P)^{3}SI s'est doté d'outils originaux nécessaires à son fonctionnement. Qu'ils soient informatiques comme les Bases GAIA (Génétique Analyses Interprétations Annotations) et la prescription électronique Thésée, ou biologiques avec des outils optimisés en matière d'identito-vigilance (STR, ou panel de SNPs (MAF~0.5) et qui sont réalisés comme contrôle de filiation entre individus parents-enfants, mais aussi inter-échantillons (constitutionnel-tumoral ; tumeur-métastase…).
Des arbres décisionnels et des stratégies analytiques ont été mis en place pour optimiser l'équation entre type de prélèvement + marqueurs + pathologies. Enfin, le pôle est aussi au cœur de nombreuses études rétrospectives diagnostiques et favorise la participation institutionnelle et/ou internationale à des projets de recherche (+30% de projets/an).
Ainsi, le modèle GI(P)^{3}SI permet, *via* une gestion centralisée et structurée, une coordination et une articulation fluide et efficiente de ces activités afin d'en valoriser les ressources à l'interface entre le diagnostic et la recherche.

Laetitia_assises de génétique2018_definitif.doc

P197 : La microduplication 7q36.1q36.3 : à propos d'une observation

Auteurs :

Molka Sebai (1), Meriem Chaouch (1), Syrine Hizem (1), Yasmina Elaribi (1), Imen Rejeb (1), Houweyda Jilani (1), Ahlem Achour (1), Bouthaina Bouraoui (1), Manel Lajimi (1), Nadia Siala (2), Ahmed Maherzi (2), Lamia Ben Jemaa (1)

1. Service des maladies congénitales et héréditaires, Hôpital Mongi Slim, la Marsa, Tunis, Tunisie, Tunis, Tunisie
2. Service de pédiatrie et néonatologie, Hôpital Mongi Slim, la Marsa, Tunis, Tunisie, Tunis, Tunisie

Mots clefs : microduplication 7q36.1q36.3, retard global du développement, dysmorphie faciale, CGH array

Résumé :

Plusieurs cas de trisomies partielles 7q terminales ont été décrits au caryotype standard. Ces duplications sont associées à diverses anomalies phénotypiques comprenant une dysmorphie faciale, des anomalies des extrémités, des malformations cérébrales et un retard du développement. Le développement de la technique de CGH array a permis de mettre en évidence plusieurs microduplications dans cette région et de mieux caractériser les phénotypes qui leur sont associés.
Nous rapportons l'observation d'une patiente âgée d'un an, issue d'un mariage entre cousins germains et adressée pour hypotonie et dysmorphie faciale.
A l'examen, elle présentait une hypotrophie, une dysmorphie faciale (front large, bosses frontales, saillie de la suture métopique, yeux globuleux, sclérotiques bleutées, cils longs, oreilles décollées, pits auriculaires), une fontanelle antérieure large, une hypotonie, et un retard des acquisitions psychomotrices. Le bilan thyroïdien et l'EMG étaient normaux. L'exploration cérébrale est en cours.
L'exploration cytogénétique a comporté un caryotype standard fait en premier lieu qui a retrouvé un chromosome 15 remanié, comportant du matériel chromosomique additionnel sur son bras court. Nous avons pratiqué une CGH array qui a mis en évidence une microduplication en 7q36.1q36.3 de 7.2Mb: arr[GRCh37] 7q36.1q36.3(151,711,773_158,909,738)x 3. Cette anomalie a été confirmée par FISH avec la sonde 7qter, montrant la présence d'une troisième copie 7qter insérée sur un chromosome acrocentrique.
Plusieurs cas de microduplications dans cette région chromosomique ont été rapportés dans la littérature. Le phénotype était très hétérogène chez ces patients, avec notamment des anomalies des extrémités (polysyndactylies des mains et des pieds de degré variable, pouce triphalangique), une hypertrophie musculaire congénitale, une agénésie du corps calleux, et une dysmorphie faciale caractéristique (bosses frontales, occiput saillant, hypertélorisme, petit nez, microrétrognathisme). Nous retrouvons ces mêmes signes dysmorphiques chez notre patiente, qui ne présentait pas en revanche d'anomalie importante des extrémités en dehors d'un chevauchement des orteils. La région 7q36.1q36.3 dupliquée comprend plusieurs gènes morbides dont *SHH*, *LMBR1 et WDR60* dont les mutations sont responsables d'anomalies squelettiques, *DNAJB6* responsable du développement musculaire et *DPP6* qui serait un gène candidat dans la déficience intellectuelle avec microcéphalie. L'altération du dosage génique de ces gènes pourrait expliquer le retard du développement chez notre patiente.
La technique de CGH nous a permis de caractériser l'anomalie chromosomique associée au tableau clinique de notre patiente. Une recherche d'un remaniement chromosomique équilibré ou non, impliquant les chromosomes 7 et 15 est indiquée chez les parents, afin de déterminer le caractère hérité ou de novo de cette anomalie et de proposer un conseil génétique adéquat.

Abstract Dup7q .docx

P198 : Séquençage de l'ADN tumoral et circulant de méningiomes : vers de nouveaux marqueurs moléculaires pronostiques et thérapeutiques.

Auteurs :

catherine roche (1), Noemie Basset (2), amira mohamed (1), thomas graillon (3), anne barlier (1)

1. Biologie Moléculaire, Hopital de la Conception-AP-HM, marseille, France
2. Biologie Moléculaire, Hopital de la Conception-AP-HM, Marseille, France
3. Neurochirurgie, Hopital de la timone-AP-HM, marseille, France

Mots clefs : NGS, meningiome, biopsie liquide

Résumé :

Les méningiomes constituent les tumeurs intracrâniennes les plus fréquentes chez l'adulte. Le traitement repose sur la résection neurochirurgicale. Bien que ces tumeurs soient le plus souvent bénignes, 10% d'entre elles aboutisse à une impasse thérapeutique suite à une agressivité particulière de la tumeur et malgré la radiothérapie. Il n'existe aucun traitement pharmacologique efficace à ce jour pour ces tumeurs.
Notre objectif était de rechercher de nouveaux marqueurs moléculaires pronostiques et thérapeutiques dans le but de préciser l'agressivité ou la récidive pour une prise en charge plus adaptée ainsi que d'identifier de nouvelles cibles thérapeutiques.
Matériel et Méthode : Nous avons analysé une série de méningiomes (n=38) par séquençage à haut débit en utilisant une librairie QIAseq Targeted DNA Panel comprenant un panel de 13 gènes décrits comme étant impliqués dans la tumorigénèse de ces tumeurs. Cette librairie comporte des codes-barres moléculaires pour rechercher les mutations ponctuelles même à de faibles fréquences. Les variations du nombre de copies du gène NF2 ont été réalisées par PCR en temps réel.
De plus, nous avons également étudié l'ADN circulant (ADNccf) dans les liquides biologiques afin d'étudier la faisabilité de la biopsie liquide pour ces patients dans l'optique de leur proposer un suivi clinique peu invasif.
Résultats : Nous avons relevé des altérations somatiques dans 79 % des cas. 39 % des tumeurs présentent une altération du nombre de copie du gène NF2 (associé dans 53 % des cas à une mutation du gène NF2) et 60.5 % des tumeurs présentent une mutation pathogène ponctuelle. L'ADN circulant a été extrait du plasma de ces patients en pré- et post-opératoire. En utilisant la même procédure expérimentale que celle utilisée pour analyser la tumeur, nous n'avons pas identifié de mutation sur cet ADN circulant.
Conclusion : Ce travail ouvre des perspectives prometteuses mais doit être poursuivi sur une plus large série de tumeurs pour rechercher des corrélations génotype-phénotype. Le système de code barre moléculaire nous a permis de mettre en évidence des variations génomique faibles sur la tumeur mais pas sur l'ADNccf. Nous poursuivons notre analyse sur l'ADNccf de patients porteurs de méningiomes particulièrement agressifs et invasifs afin de conclure sur la faisabilité de la biopsie liquide dans le cas de patients porteurs de méningiomes.

P199 : Le syndrome 48, XXYY chez un enfant béninois

Auteurs :

Simon AZONBAKIN (1), Jules Maroufou ALAO (2), Marius ADJAGBA (1), Flore GANGBO (1), Raphael DARBOUX (1), Anatole LALEYE (1)

1. Service d'Histologie, Biologie de la Reproduction, cytogénétique et Génétique Médicale ,, Faculté des Sciences de la Santé-Université d'Abomey-Calavi , Cotonou, Bénin
2. Service de Pédiatrie et de Génétique Médicale, Centre Hospitalier et Universitaire de la Mère et de l'Enfant (CHU MEL), Cotonou, Bénin

Mots clefs : Dysgonosomie, 48 XXYY, dysmorphie, retard psychomoteur

Résumé :

ABSTRAT
Le syndrome XXYY est une anomalie des chromosomes sexuels (Dysgonosomie) rapporté pour la première fois par Muldal et Ockey en 1965. Son incidence varie entre 1/18 000 à 1/40 000. Ce syndrome est souvent comparé au syndrome de Klinefelter (47,XXY) à cause de son phénotype incluant la grande taille et un hypogonodisme hypergonadotrope. Nous rapportons un cas de syndrome 48 XXYY chez un nourrisson de 15 mois admis en consultation de génétique pour retard de développement psychomoteur . Cet enfant présentait un syndrome dysmorphique à type de d'hypertélorisme avec fentes palpébrales obliques en haut et en dehors, les narines antéversées, une microstomie et une nuque plate. Le caryotype standard a révélé une garniture chromosomique de type 48, XXYY. Cette anomalie a été confirmé par une hybridation in situ (FISH) avec les sondes adéquates.

XXYY Assises 2018.docx

P200 : Omics et théranostique dans les cancers pédiatriques : une analyse intégrant exomes et RNAseq pour optimiser la prise en charge des patients

Auteurs :

Mégane BOUVET (1), Stelly BALLET (1), Delphine LEQUIN (1), Camille BENOIST (2), Virginie BERNARD (2), Eve LAPOUBLE (1), Nathalie CLEMENT (3), Tiphaine ADAM-DE-BEAUMAIS (4), Gudrun SCHLEIERMACHER (3), Birgit GEOERGER (4), Gaelle PIERRON (1)

1. Génétique somatique, Institut Curie, Paris, France
2. Bio-informatique clinique, Institut Curie, Paris, France
3. Equipe SIRIC Recherche Translationnelle Oncologie Pédiatrique, Institut Curie, Paris, France
4. Oncologie pédiatrique et de l'adolescent , Gustave Roussy, Paris, France

Mots clefs : Cancer pédiatrique, rechute, MAPPYACTS, RNAseq, Exome, expression, fusion, CNV, variants, thérapie ciblée

Résumé :

Les cancers pédiatriques sont rares mais ils représentent, en France, la première cause de décès par maladie chez les enfants. Malheureusement, les essais cliniques menés par les industriels du médicament sont aussi rares. Identifier des tumeurs potentiellement sensibles à une molécule thérapeutique existante quel que soit le type de cancer permettrait d'optimiser la prise en charge des enfants et adolescents en situation d'échec thérapeutique.
Dans cette optique, et grâce au développement du séquençage à très haut débit (NGS) qui rend possible le classement des tumeurs selon de nombreux marqueurs biologiques, nous avons proposé une approche intégrée combinant analyse d'Exomes (Constitutionnel et Tumoral) et de RNAseq. Les analyses moléculaires réalisées ont permis d'établir des profils individuels, d'identifier des cibles thérapeutiques mais aussi d'approfondir la connaissance sur les voies de signalisation impliquées dans les différents cancers pédiatriques.
Ces analyses ont été réalisées par les équipes de l'Institut Curie et de Gustave Roussy dans le cadre du projet MAPPYACTS qui prévoyait 300 inclusions sur 3 ans (19 centres ouverts en France). Aujourd'hui, 16 mois après le début du projet, 305 patients ont été inclus sur les deux sites. A l'Institut Curie, 145 patients ont déjà bénéficié de ce programme et 113 analyses complètes ont été effectuées.
L'ensemble des altérations pertinentes sont intégrées et reportées pour discussion lors du MTB (Molecular tumor board) pluridisciplinaire hebdomadaire visant à évaluer et à hierachiser les éventuelles cibles thérapeutiques au regard des protocoles disponibles (E-SMART – **E**uropean Proof-of-concept Therapeutic **S**tratification Trial of **M**olecular **A**nomalies in **R**elapsed of **R**efractory **T**umors in children). Actuellement 101 patients ont bénéficié d'une analyse contributive représentant près d'une vingtaine de pathologies distinctes parmi lesquelles : 13 sarcomes d'Ewing, 11 neuroblastomes, 9 ostéosarcomes, 11 RMS, 28 tumeurs cérébrales (6 astrocytomes, 6 ependymomes, 4 glioblastomes, 5 gliomes, 5 médulloblastomes…) mais aussi 4 néphroblastomes, et 2 leucémies (B-ALL)… De très nombreuses altérations ont pu être identifiées : 24 cas présentaient des transcrits de fusion spécifiques (impliquant par exemple EWSR1-FLI1 (-> Inhibiteurs de PARP ou les récepteurs NRTK LOXO1), 25 avec une anomalie de TP53 (associée à une LOH ou une isodisomie -> inhibiteurs Wee1), 23 avaient une inactivation bi-allélique de CDKN2A/B (délétion homozygote focale, ou mutation homozygote -> inhibiteurs de CDK4/6), 6 touchaient des gènes du remodellage de la chromatine (Complexe SWI/SNF -> inhibiteurs d'EZH2), 8 présentaient des amplifications focales ou mutations activatrices de N- ou CMYC, et bien d'autres encore affectaient les voies PIK/AKT/mTOR ou les voies de la réparation des cassures double brins. Ainsi, 216 marqueurs d'intérêt comme cible moléculaire ont pu conduire à une orientation thérapeutique.

Abstract_assise_de_génétique_2018_BOUVET_Megane.doc

P201 : Haut risque de cancer, surveillance et chirurgie de réduction de risque : quelle réalité dans le groupe PHARE GRAND OUEST ?

Auteurs :

Charlotte HUET (1), Anne-Cécile EGAULT (1), Estelle POUPELIN (1), Angela BABIN (2), Marion BELLEGUIC (3), Sébastien BIGOT (4), Nathalie BLANCHARD (5), Marie BOISSELIER (6), Florence CAPLIEZ (7), Anne CAROFF (8), Alice YVARD (9), Caroline ABADIE (3)

1. Phare Grand Ouest, Centre Eugène Marquis, RENNES, France
2. Service de Génétique, CHU, TOURS, France
3. Unité d'Oncogénétique, ICO René Gauducheau, Saint-Herblain, France
4. Génétique Médicale, CH Bretagne Atlantique, VANNES, France
5. Unité d'Oncogénétique, Centre Eugène Marquis, RENNES, France
6. Unité d'Oncogénétique, ICO Paul Papin, ANGERS, France
7. Service Oncologie Génétique Régional Poitou-Charentes, CH, NIORT, France
8. Service de Génétique Médicale, CHU, BREST, France
9. Service d'Oncologie Médicale, Groupe Confluent, Institut Catherine de Sienne, NANTES, France

Mots clefs : surveillance, cancer du sein, syndrome de Lynch, haut risque

Résumé :

Le groupe Phare Grand Ouest (PGO), financé par l'INCa depuis 2009 (expérience pilote) et pérennisé en 2012 (déploiement national), regroupe 8 équipes d'oncogénétique de 4 régions : Bretagne, Centre, Pays de la Loire, Poitou-Charentes et une équipe de coordination inter-régionale. Son objectif est de coordonner et améliorer la prise en charge multidisciplinaire des personnes prédisposées au cancer du sein ou des ovaires (mutation constitutionnelle délétère (MCD) des gènes BRCA1, BRCA2 ou risque cumulé de cancer du sein > 20% selon le logiciel BOADICEA) ou aux cancers digestifs (syndrome de Lynch). Après recueil du consentement écrit, la validation par l'oncogénéticien d'un programme personnalisé de suivi (PPS) repose sur un enregistrement par application du référentiel correspondant ou la discussion du dossier en RCP, obligatoire en cas de chirurgie prophylactique. Un système d'information développé spécifiquement et déclaré auprès de la CNIL permet un rappel par courrier des rendez-vous d'examens de suivi programmés selon la périodicité définie dans le PPS et des relances en cas de non-retour des compte-rendus.
Au 22/09/2017, 2857 personnes ont signé un consentement : 1599 ont un dossier complet avec PPS validé et présentent une MCD du gène BRCA1 (557), BRCA2 (410), un haut risque sans mutation identifiée (315) ou un syndrome de Lynch (317). Parmi les 1277 femmes à haut risque mammaire, la moitié a eu au moins 3 bilans d'imagerie annuelle, le nombre de suivis annuels allant de 1 à 8. Au cours du suivi PGO, 280 femmes (22%) ont eu au moins une IRM classée ACR3 et 146 (11%) au moins une IRM de contrôle supplémentaire. La classification ACR n'était pas renseignée pour 204 femmes (16%). A l'inclusion, 79% (315/400) des femmes de plus de 40 ans mutées BRCA1 et 83% (213/257) des plus de 45 ans mutées BRCA2 avaient bénéficié d'une chirurgie annexielle de réduction de risque. Au cours du suivi, cette chirurgie a été réalisée chez 47% (39/83) et 55% (24/44) de ces femmes, respectivement. Une chirurgie mammaire de réduction de risque a été faite par 8% (106/1277) et 7% (82/1158) des femmes, respectivement à l'inclusion et au cours du suivi. Ce dernier chiffre ne tient pas compte des carcinomes in situ de découverte pré-opératoire nécessitant *in fine* un reclassement en chirurgie curative pour le sein traité (données à venir). Concernant les femmes de plus de 45 ans suivies pour un syndrome de Lynch, une chirurgie prophylactique pelvienne a été réalisée à l'inclusion chez 43% (37/87) et au cours du suivi chez 38% (18/48) des femmes. Par ailleurs, un cancer a été détecté au cours du suivi chez 85 femmes à haut risque mammaire et 9 personnes avec syndrome de Lynch.
Ainsi, nous rapportons les résultats de la première cohorte française de suivi à notre connaissance. La plus-value d'un tel programme est renforcée par la possibilité d'informer les personnes concernées et leurs médecins de la validation de nouvelles recommandations afin d'optimiser leur suivi.

P202 : Divers modes de ségrégation d'une t(11;15)(q25;q11.2) : Conséquences et Intérêt d'une enquête familiale.

Auteurs :

Valérie KOUBI (1), Marie-France PORTNOI (2), Elise ALABRE (1), Alexandre BEAUGRAND (1), Rachel GENTIL (1), Dominique LALET (1), Christelle LAMON (1)

1. Génétique, Laboratoire Eylau Unilabs, Neuilly-sur-Seine, France
2. Genetique, Laboratoire Eylau Unilabs, Neuilly-sur-Seine, France

Mots clefs : t(11;15),ségrégation meiotique, FISH sur sperme, infertilité, enquête familiale

Résumé :

Nous présentons le cas d'une translocation réciproque t(11;15) découverte chez un couple venu consulter pour infertilité secondaire depuis 3 ans. Le bilan de cette infertilité a mis en évidence une translocation réciproque apparemment équilibrée t(11;15)(q25;q11.2) chez le conjoint, jusque-là jamais suspectée en raison de la naissance d'un 1er enfant bien portant et sans difficulté, chez un couple n'ayant jamais eu de fausses-couches.
La poursuite des explorations génétiques a mis en évidence un déséquilibre important de la ségrégation meiotique spermatique lors de la réalisation de la FISH sur sperme spécifique, conduisant le couple vers une prise en charge en Diagnostic pré-implantatoire.
L'enquête familiale a révélé que la sœur du patient est elle-même porteuse d'une anomalie chromosomique de type marqueur surnuméraire dérivé du chromosome 15, sans translocation t(11 ;15) associée. Elle a eu 3 enfants avec deux conjoints différents, sans aucune difficulté, sans fausses-couches, et ils sont tous biens portants.
L'enquête familiale se poursuit au sein de la famille du patient.
Nous analyserons les différents modes de ségrégation de cette translocation réciproque apparemment équilibrée au sein d'une même famille et discuterons des différentes conséquences pour chacun des cas de figure observé dans cette fratrie.

P203 : Suivi de la maladie résiduelle au cours des Leucémies Myéloïdes Chroniques par RQ-PCR : à propos d'une série marocaine

Auteurs :

NADIA SERBATI (1), Meryem QACHOUH (2), Meryem DAKKOUNE (2), Sellama NADIFI (1), Asmaa Quessar (2)

1. Laboratoire de Génétique Médicale , CHU Ibn ROCHD de Casablanca, CASABLANCA, Maroc
2. Servie d'hématologie et d'oncologie pédiatrique, Hopital 20 aout de Casablanca, CASABLANCA, Maroc

Mots clefs : Leucémie myéloide chronique, Maladie résiduelle, Quantification, BCR-ABL.

Résumé :

La leucémie myéloïde chronique est une néoplasie myéloproliférative caractérisée par la présence d'un marqueur cytogénétique qui est le chromosome Philadelphie. Ce chromosome 22 raccourci résulte d'une translocation réciproque t(9;22)(q34;q11) qui aboutit à la formation d'un gène de fusion BCR-ABL codant pour une protéine à activité tyrosine kinase anormale.
La mise en évidence de la translocation t(9;22) repose essentiellement sur le caryotype médullaire et l'hybridation in situ fluorescente. Le suivi des patients sous traitements est une étape cruciale de la prise en charge vu le taux de rechutes et d'échecs thérapeutiques très élevé. La quantification du transcrit bcr-abl reste le meilleur moyen pour évaluer la maladie résiduelle dans une LMC.
Dans ce travail, nous rapportons l'intérêt de la quantification par RQ-PCR du transcrit p120 Mbcr-abl
Chez une série de patients marocains. Cette étude révèle également l'intérêt de l'automatisation de cette technique a travers l'utilisation du Genexpert comme moyen de détection de la translocation t(9,22).

P204 : Inhibiteurs de CDK4 et CDK6 : des candidats au traitements des carcinomes adrénocorticaux

Auteurs :

Djihad HADJADJ (1), Su-Jung KIM (1), Thomas DENECKER (1), Laura BEN DRISS (1), Jean-Charles CADORET (1), Chrystelle MARIC (1), Giuseppe BALDACCI (1), Fabien FAUCHEREAU (1, 2)

1. Pathologies de la Réplication de l'ADN, Institut Jacques Monod CNRS UMR7592 - Université Paris Diderot - Paris 7, Paris, France
2. ePôle de Génoinformatique, Institut Jacques Monod CNRS UMR7592 - Université Paris Diderot - Paris 7, Paris, France

Mots clefs : Cancer, bioinformatique, palbociclib, ribociclib, adrénocortical

Résumé :

High proliferation rate and high mutation density are both indicators of poor prognosis in adrenocortical carcinomas. We performed a hypothesis-driven association study between clinical features in adrenocortical cacinomas and the expression levels of 136 genes involved in DNA metabolism and G1/S phase transition. In 79 samples downloaded from The Cancer Genome Atlas portal, high *Cyclin Dependent Kinase 6* (*CDK6)* mRNA levels gave the most significant association with shorter time to relapse and poorer survival of patients. A hierarchical clustering approach assembled most tumors with high levels of *CDK6* mRNA into one group. These tumors tend to cumulate mutations activating the Wnt/b-catenin pathway and show reduced *MIR506* expression. Actually, the level of *MIR506* RNA is inversely correlated with the levels of both *CDK6* and *CTNNB1* (encoding bετα-catenin). Together these results indicate that high *CDK6* expression is found in aggressive tumors with activated Wnt/ bετα-catenin pathway. Thus we tested the impact of Food and Drug Administration-approved CDK4 and CDK6 inhibitors, namely palbociclib and ribociclib, on SW-13 and NCI-H295R cells. While both drugs reduced viability and induced senescence in SW-13 cells, only palbociclib was effective on the retinoblastoma protein (pRB)-negative NCI-H295R cells, by inducing apoptosis. In NCI-H295R cells, palbociclib induced an increase of the active form of Glycogen Synthase Kinase 3bετα (GSK3bετα) responsible for the reduced amount of active b-catenin, and altered the amount of *AXIN2* mRNA. Taken together, these data underline the impact of CDK4 and CDK6 inhibitors in treating adrenocortical carcinomas.

P205 : 700 cas consécutifs d'analyse oncogénétique par capture quantitative des régions d'intérêt : validation des réarrangements de grande taille et spectre des mutations 'incidents'.

Auteurs :

Nancy Uhrhammer (1), Maud Privat (1), Mathilde Gay-Bellile (1), Flora Ponelle (1), Yannick Bidet (2), Yves-Jean Bignon (1)

1. Oncogénétique, Centre Jean Perrin, Clermont-Ferrand, France
2. Génétique et Physiologie, Université d'Auvergne, Clermont-Ferrand, France

Mots clefs : NGS, panel de gènes, oncogénétique, mutation

Résumé :

Dans l'évolution technique vers une analyse génomique toujours plus puissant et plus rapide, les examens progressivement plus complets peuvent être proposés aux patients. Nous avons mise en place un panel de 39 gènes pour usage en routine pour évaluer le risque héréditaire de cancer. Plus de 700 patients ont déjà été analysés avec ce panel.
Recrutement : Lors des consultations en oncogénétique, le panel est présenté avant prescription, soit d'un examen en panel, soit d'un examen « orienté » de certains gènes spécifiquement impliqués dans la pathologie personnelle ou familiale du patient, selon le souhait du patient. Le patient donne son consentement éclairé par écrit, avec son accord (ou non) de participer aux projets de recherche.
Analyse : l'ADN extrait d'un prélèvement sanguin est fragmenté, taggué par un indice unique, et sujet à une étape d'enrichissement des séquences d'intérêt par capture en phase liquide (SureSelect). 23 patients plus un témoin négatif sont poolés et séquencés ensemble sur un MiSeq. Les anomalies pathogène ou probablement pathogènes sont vérifiées sur un deuxième prélèvement, par séquençage Sanger pour les anomalies ponctuelles, ou QMPSF pour les anomalies de nombre de copies (CNV). Exceptionnellement, la détection des séquences chimères permet la vérification de certains réarrangements de grande taille par PCR spécifique.
Le laboratoire a développé un pipeline informatique pour la détection et annotation de plusieurs types d'anomalies. La détection des anomalies ponctuelles, des CNV, et les séquences chimères indicative des réarrangements, était validé sur des nombreux échantillons porteurs de mutation connue au laboratoire. Ce pipeline permet de masquer les données non-demandées en cas demande d'examen orienté.
Résultats : Entre 80 et 90% de nos patients acceptent l'analyse en panel de 39 gènes, ce qui nous permet d'accumuler rapidement une large base de données des variations observés 'hors-indication'. Environ 17 % des cas présente une mutation pathogène ou probablement pathogène. 12 CNV étaient observés, dans 6 gènes différents, dont 10 délétions et 2 duplications. Pour 4 délétions, les bornes de délétions étaient observées et confirmés par PCR.
Pour les mutations classe 4 et 5, environ 2% étaient observées dans les gènes qui n'auront pas été analysé dans un examen limité aux gènes directement impliqués dans la pathologie familiale. Ce chiffre est de 1% si on ne considère que des mutations des gènes dominants.
Conclusion : Le panel de 39 gènes s'est montré très efficace pour la détection des anomalies. Ce panel est bien accepté par les patients, malgré la possibilité de découvert d'un risque héréditaire inattendue par rapport au tableau clinique familial. Dans notre expérience, ces mutations « incidentes » sont très rares. Une analyse des mutations retrouvées, par rapport aux phénotypes familiales des patients, sera présentée.

Abstract UHRHAMMER Assises en Génétique 2018.docx

P206 : Les RCP moléculaires : une expertise multidisciplinaire pour optimiser la décision thérapeutique. Expérience de l'Institut Curie.

Auteurs :

Coralie FRANCK (1, 2), Claire MOREL (3), Samia MELAABI (2), Delphine LEQUIN (1), Odette MARIANI (4), Guillaume BATAILLON (5), Virginie BERNARD (6), Vincent SERVOIS (7), Mohamed Gabriel ZIZI (2), Julien MASLIAH PLANCHON (1), Céline CALLENS (2), Anne VINCENT-SALOMON (5), Ivan BIECHE (2), Christophe LE TOURNEAU (8), Maud KAMAL (3), Gaëlle PIERRON (1)

1. Génétique Somatique, Institut Curie, Paris, France
2. Pharmaco génomique, Institut Curie, Paris, France
3. Département d'Oncologie Médicale Unité d'Investigation Clinique, Institut Curie, Paris, France
4. Centre de Ressources Biologiques, Institut Curie, Paris, France
5. Pathologie, Institut Curie, Paris, France
6. Direction de Recherche Biomédicale, Institut Curie, Paris, France
7. Radiologie Imagerie, Institut Curie, Paris, France
8. Département d'Oncologie Médicale, Essais précoces, Institut Curie, Paris, France

Mots clefs : RCP moléculaire, criblage moléculaire, Panel NGS, CGH, marqueurs moléculaires, somatique, thérapie ciblée, essais cliniques

Résumé :

La progression tumorale s'accompagne d'une accumulation d'altérations génomiques quantitatives (amplifications, gains, pertes, délétions homozygotes) ou qualitatives avec des anomalies de structure des chromosomes (translocations) ou de la séquence nucléotidique (variations ponctuelles, indels). Ces évènements somatiques aboutissent respectivement au gain ou à la perte de fonction d'oncogènes, ou de gènes suppresseurs de tumeurs clés. La caractérisation fine de ces altérations sur le plan moléculaire et leur intégration avec l'histoire clinique et le type du cancer représentent un enjeu majeur pour la prise en charge optimale des patients avec l'indication de thérapies ciblées éventuelles.
Le nombre croissant d'essais cliniques « nouvelles générations », nécessite l'optimisation d'une organisation facilitant l'analyse intégrée des marqueurs / tests compagnons avec l'ensemble de l'histoire clinique des patients.
Les Réunions de Concertation Pluridisciplinaires (RCP) sont donc une étape essentielle de l'organisation des soins en cancérologie. A l'Institut Curie, les RCP moléculaires ont été mises en place depuis octobre 2014 dans le sillon du succès de l'essai SHIVA01. Tous les patients atteints d'un cancer métastatique, en récidive ou atteint d'un cancer rare (adulte ou pédiatrique) peuvent être inscrits à la RCP moléculaire par l'oncologue médical qui les suit. Cette réunion vise à définir le type le plus pertinent d'analyse à réaliser pour rechercher des altérations moléculaires pouvant être ciblées par une thérapie chez chaque patient présenté. Les RCP moléculaires ont lieu de façon hebdomadaire et regroupent de nombreux experts de compétences complémentaires incluant les oncologues, les radiologues, les pathologistes, et les biologistes médicaux. Les résultats des analyses moléculaires sont discutés et interprétés à la lumière de l'histoire clinique du patient.
Entre octobre 2014 et mai 2017, 786 patients ont été présentés en RCP moléculaire. Parmi ces 786 patients, 64% ont eu un criblage moléculaire comportant des analyses en immunohistochimie, du séquençage ciblé haut débit (Panel NGS) et/ou des analyses pan génomiques par CGHarray. L'intégration de ces données a permis d'identifier, pour 258 patients, des mutations, amplifications et ou délétions homozygotes de gènes majeurs de l'oncogenèse.
Les principaux types de cancers pour lesquels les analyses moléculaires ont été réalisées sont : les cancers du sein (16,1%), de l'ovaire (10,1%), de la tête et du cou (10%), du poumon (7,6%), du cerveau (7,6%), du colon (6,2%), du col de l'utérus (5,1%), de la prostate (4,7%), de l'utérus (3,9%), du pancréas (3,8%), de l'os (3,8%), des tissus mous (3,5%), du foie (1,9%) et du rectum (1,9%).
Ainsi la mise en place d'une RCP incluant la caractérisation moléculaire tumorale a permis d'orienter précisément 16% des patients vers l'essai thérapeutique le mieux adapté et ce dans un délai compatible avec la pratique clinique.

Assises 2018 Coralie Version finale.docx

P207 : Etude génétique du gène APC responsable de la polypose colique chez des familles tunisiennes et importance du conseil génétique

Auteurs :

Ameni KDISSA (1), Klaus BRUSGAARD (2), Rihab BEN SEGHAIER (3), Wiem MANOUBI (3), Olfa HALLARA (4), Hamouda SAFFAR (4), Mahdi KSIAA (5), Lamia GOLLI (6), Fahmi HMILA (7), Ali SAAD (3), Moez GRIBAA (8)

1. Laboratoire de Cytogénétique, de Génétique moléculaire et de Biologie de la Reproduction Humaines., CHU Farhat Hached Sousse Tunisie, Sousse, Tunisie
2. Département de la Génétique Clinique , CHU Odense. Odense Danemark, odense, Danemark
3. Laboratoire de Cytogénétique, de Génétique moléculaire et de Biologie de la Reproduction Humaines. , CHU Farhat Hached. Sousse. Tunisie, sousse, Tunisie
4. Service de Gastro-entérologie. , CHU Fattouma Bourguiba. Monastir. Tunisie, Monastir, Tunisie
5. Service de Gastro-entérologie. , CHU Sahloul. Sousse. Tunisie, sousse, Tunisie
6. Gastro-entérologie, Cabinet privé de Gastro-entérologie. Sousse. Tunisie., sousse, Tunisie
7. Service de Chirurgie Générale, CHU Farhat Hached. Sousse. Tunisie, sousse, Tunisie
8. Laboratoire de Cytogénétique, de Génétique moléculaire et de Biologie de la Reproduction Humaines., CHU Farhat Hached Sousse Tunisie, Sousse, France

Mots clefs : APC, mutations, séquençage, PAF

Résumé :

Le cancer colorectal est le 3ème cancer dans le Monde, il représente la 4ème cause de décès par cancer.
Le CCR se présente sous 2 formes : familiale et sporadique dont les caractéristiques moléculaires et cliniques se chevauchent. Pour notre étude on s'est intéressé uniquement à la forme familiale héréditaire polyposique (PAF) qui est responsable de 1% des cancers colorectaux. La PAF est une maladie génétique à transmission autosomique dominante qui se manifeste par la formation de plusieurs centaines de polypes dans le côlon, dès l'adolescence.
Dans ce travail, nous avons recruté 69 patients durant la période allant de 2007 à 2016. Tous ces patients nous ont été adressés dans un contexte de polypose colique familiale. Nous avons criblé le premier gène impliqué dans cette pathologie (APC) chez des familles à risque dans cette pathologie.
L'analyse du gène APC impliqué dans la FAP, a permis de détecter 12 mutations délétère chez 23 patients. Plusieurs mutations touchant le gène APC ont été reportées pour la 1ere fois.
Les mutations touchant le gène APC sont fréquentes et localisées dans une partie de l'exon 16 (Mutation Cluster Region)
La caractérisation des mutations causales nous a permis d'adapter la prise en charge médicale des patients, de formuler un conseil génétique adéquat et d'offrir un diagnostic présymptomatique aux apparentés à risque qui le souhaitaient.

Assis résumé.docx

P208 : Microdélétions du chromosome Y et infertilité masculine : Etude clinico-biologique et moléculaire (A propos de 163 cas)

Auteurs :

Ghada SAAD (1, 2), Ameni KDISSA (3), Amel HAJ KHELIL (4), Samir HIDAR (5), Monia ZAOUALI (6), Soumaya MOUGOU-ZRELLI (1), Samira IBALA (1), Koussay ACH (2), Moez GRIBAA (7), Ali SAAD (1)

1. Laboratoire de Cytogénétique, de Génétique moléculaire et de Biologie de la Reproduction Humaines. , CHU Farhat Hached. Sousse. Tunisie, sousse, Tunisie
2. Service d'Endocrinologie et de Diabétologie, CHU Farhat Hached. Sousse. Tunisie, sousse, Tunisie
3. Laboratoire de Cytogénétique, de Génétique moléculaire et de Biologie de la Reproduction Humaines., CHU Farhat Hached Sousse Tunisie, Sousse, Tunisie
4. Institut Supérieur de Biotechnologie, Monastir, Tunisie, Institut Supérieur de Biotechnologie, Monastir, Tunisie, Monastir, Tunisie
5. Service de Gynécologie-Obstétrique, CHU Farhat Hached. Sousse. Tunisie, sousse, Tunisie
6. Laboratoire de Physiologie et explorations fonctionnelles, CHU Farhat Hached. Sousse. Tunisie, sousse, Tunisie
7. Laboratoire de Cytogénétique, de Génétique moléculaire et de Biologie de la Reproduction Humaines., CHU Farhat Hached Sousse Tunisie, Sousse, France

Mots clefs : Chromosome Y, microdélétions, infertilité, AZF, STS

Résumé :

La stérilité est un problème de santé publique qui intéresse environ 15% des couples. Dans la moitié des cas son origine est masculine mais dont les causes ne sont pas élucidées chez 90% des patients et pouvant être d'ordre environnemental ou génétique.
Le but de ce travail était de chercher les microdélétions du chromosome Y chez 163 hommes consultant pour infertilité masculine, pour la majorité venant du centre tunisien et présentant au spermogramme une azoospermie ou une oligozoospermie d'origine sécrétoire périphérique ou mixte. Cette recherche a été faite par deux réactions de PCR multiplex. Dans le multiplex A, nous avons amplifié les marqueurs STSs : Sy82 (AZFa), Sy134 (AZFb), Sy254 (AZFc) et dans le multiplex B nous avons amplifié les marqueurs STSs : Sy81 (AZFa), Sy127 (AZFb), Sy255(AZFc).
La microdélétion AZF a été trouvée chez 14 patients (8,58%) conformément aux données de la littérature. Cette microdélétion touche la zone AZFc dans 9 cas, la zone AZFa dans un cas, les zones AZFb+c dans deux cas et les zones AZFa+b+c dans deux cas. Une obstruction épididymaire a été associée chez trois patients micodélétés. Les données de la biopsie testiculaire montrent que le phénotype testiculaire peut être le même avec des délétions à des niveaux différents d'AZF.
Ces microdélétions s'héritent du père au fils lorsqu'une ICSI est possible ce qui justifie pleinement une consultation de conseil génétique pour ces patients et leurs conjointes afin de discuter avec eux le risque principal qui est celui de la stérilité en cas de descendance masculine

résumé asssises de génétique SAAD G..docx

P209 : Chromothripsis ? Chromoanasynthesis ? Chromoanagenesis ? Par Toutatis !

Auteurs :

Nicolas CHATRON (1, 2), Flavie DIGUET (1, 3), Pierre-Antoine ROLLAT-FARNIER (1, 4), Julia LAUER ZILLHARDT (1, 5), Arthur SORLIN (1), Joris ANDRIEUX (6), Sandra CHANTOT-BASTARAUD (7), Patrick CALLIER (8), Marie-Pierre CORDIER (1), Christèle DUBOURG (9, 10), Françoise GIRARD (11), Sylvie JAILLARD (12), Boris KEREN (13), James LESPINASSE (14), Nathalie MARLE (15), Alice MASUREL (15), Michèle MATHIEU (16), Corinne METAY (17), Marie-France PORTNOÏ (7), Fabienne PRIEUR (18), Marlène RIO (19), Jean-Pierre SIFFROI (7), Caroline SCHLUTH-BOLARD (1, 2), Damien SANLAVILLE (1, 2)

1. Service de génétique, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
2. Equipe GENDEV, CRNL, INSERM U1028, , CNRS UMR5292, UCBL1, Lyon, France
3. Equipe GENDEV, CRNL, UCBL1, , INSERM U1028, CNRS UMR 5292, Lyon, France
4. Cellule bioinformatique, Plateforme NGS, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
5. Unité de Diagnostic Préimplantatoire, Laboratoires de Diagnostic Génétique, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
6. Service de génétique, Hôpital Jeanne de Flandre, CHRU de Lille, Lille, France
7. Département de Génétique médicale, UF de Génétique chromosomique, Hôpital d'enfants Armand Trousseau, APHP, Paris, France
8. Laboratoire de Génétique Chromosomique et Moléculaire, CHU Dijon, Dijon, France
9. Service de Génétique Moléculaire et Génomique, CHU Rennes, Rennes, France
10. IGDR, CNRS UMR 6290, Université de Rennes 1, Rennes, France
11. Laboratoire de cytogénétique constitutionnelle et prénatale, CHU Strasbourg, Strasbourg, France
12. Service de cytogénétique et biologie cellulaire, CHU Rennes, Rennes, France
13. Département de Génétique et Centre de Référence Déficiences Intellectuelles de Causes Rares, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Assistance Publique - Hôpitaux de Paris, Paris, France
14. Service de génétique, CH Métropole Savoie, Chambéry, France
15. Service de génétique médicale, CHU Dijon, Dijon, France
16. Service de génétique clinique et oncogénétique, CHU Amiens-Picardie, Amiens, France
17. Service de cytogénétique, Hôpital Henri Mondor, Creteil, France
18. Service de Génétique Clinique, Chromosomique et Moléculaire, CHU Hôpital Nord, Saint-Etienne, Saint-Etienne, France
19. Service de Génétique Médicale, Hôpital Necker-Enfants Malades, APHP, Paris, France

Mots clefs : Chromothripsis, Chromoanagenesis, Remanieemnt chromosomique complexe, WGS, mécanique chromosomique

Résumé :

Les remaniements chromosomiques sont dits complexes (RCC) lorsqu'ils impliquent au moins deux chromosomes et trois points de cassure ou plus. Les techniques d'analyse chromosomique sur puce à ADN et de séquençage à haut débit ont permis la mise en évidence de réarrangements extrêmement complexes concentrés sur un chromosome qui dépassent cette première définition. Aujourd'hui regroupés sous le vocable ***chromoanagenesis*** les mécanismes à l'origine de ces remaniements restent mal compris et leur définition peu précise.
Suite à une collaboration nationale portant sur des cas de remaniements déséquilibrés avec présence d'au moins 4 variations du nombre de copies (CNV) sur un chromosome d'une part puis via l'utilisation du séquençage génome entier dans la caractérisation des remaniements chromosomiques apparemment équilibrés chez les patients à phénotype anormal (projet ANI) d'autre part nous avons pu colliger 15 observations de *chromoanagenesis* constitutionnels.
Tous les patients présentent un remaniement chromosomique plus complexe qu'initialement suspecté avec 314 points de cassures identifiés pour 106 attendus. Le remaniement le plus complexe est constitué de 74 points de cassure réunis en 4 *clusters* avec 14 CNVs sur le bras long du chromosome 11.
L'analyse des points de cassure a été faite au regard de i) l'interruption d'un gène, ii) de l'interruption d'un domaine topologiquement associé et de son contenu génique, iii) l'interruption d'un domaine de liaison à la lamine, iv) la position du point de cassure par rapport au site CTCF, v) la possible formation d'un transcrit de fusion.
Nous avons également recherché la présence de microhomologie, d'insertions… au niveau des points de cassure afin de mieux comprendre les mécanismes de réparation. La présence de *clusters* de points de cassure, déjà décrite dans les *chromoanagenesis* est retrouvée chez 6 patients. L'étude des fragments de jonction démontre chez ces patients que plusieurs mécanismes de réparation ont été nécessaires. Ceci va à l'encontre de l'idée qu'un seul mécanisme de réparation puisse être utilisé dans ce contexte. Les hypothèses à l'origine de ces remaniements seront discutées.
La comparaison entre les caractéristiques observées pour ces points de cassure de remaniement complexe et celles observées dans les cas plus simples devrait permettre de valider ou d'invalider l'hypothèse d'un continuum mécanistique entre les remaniements simples et complexes. De plus, compte tenu du nombre très important de points de cassure observés au total, nous espérons pouvoir établir des critères d'aide à la classification de pathogénicité d'un variant structural sur le modèle de ce

qui existe pour les variants nucléotidiques ou les variants du nombre de copies et ainsi aider à la corrélation génotype/phénotype. Il s'agit là d'un **challenge cytogénétique** majeur au moment de la mise en place du Plan France Médecine Génomique 2025.

abstract chromoanagenesis.docx

P210 : Prévalence des dysgonosomies chez les couples avec avortement spontané récurrent

Auteurs :

Rim Frikha (1), Nourhène Gharbi (1)

1. Service de génétique médicale, CHU Hedi Chaker, Sfax, Tunisie

Mots clefs : Aneuploïdie, chromosome X, avortement spontané récurrent, conseil génétique

Résumé :

L'avortement spontanée récurrent (ASR), définie par la survenue de deux ou plus de pertes fœtales à un âge gestationnel inférieur à 24 SA, est une entité pathologique qui affecte plus 2 5 % des couples en age de procréation. Les réarrangements chromosomiques parentaux représentent une cause majeure de ces pertes fœtales, parmi lesquels les dysgonosomies sont souvent rapportées.
L'objectif de cette étude est d'évaluer la contribution des dysgonosomies dans la récurrence des avortements, d'autant plus, de déterminer les caractéristiques cliniques des patients Tunisiens, ayant ces anomalies chromosomiques.
L'étude cytogénétique a été colligée chez 155 couples ayant au moins 2 avortements spontanés, et consultants pour un bilan étiologique de leur pathologie abortive ainsi que pour un conseil génétique éclairé. Le caryotype a été réalisé en bande RHG, et une PCR multiplex pour la confirmation de microdeletion du chromosome Y.
Les aneuploïdies des chromosomes sexuels représentent 25% des anomalies chromosomiques retrouvées chez les couples avec ASR. La dysgonosomie du chromosome X a été retrouvé chez 3 patients (soit une fréquence de 1.9%) : un syndrome de Klinefelter (46, XY/47, XXY) un syndrome de Turner (45, X/46, XX), et un triple X (47, XXX).
Cette étude souligne l'impact des dysgonosomies du chromosome X surtout en mosaïque dans la survenue des ASR. Par ailleurs, des études plus larges sont souhaitables afin de clarifier les caractéristiques cliniques chez des patients avec telle anomalie chromosomique.

Résumé.docx

P211 : Evaluation de l'impact d'un test génétique positif sur l'évolution clinique des patients atteints de paragangliome et/ou de phéochromocytome

Auteurs :

Alexandre Buffet (1, 2), Laurène Ben Aim (1), Sophie Leboulleux (3), Delphine Drui (4), Delphine Vezzosi (2), Rossella Libé (5), Christiane Ajzenberg (6), Danièle Bernardeschi (7), Bertrand Cariou (4), Frédéric Chabolle (8), Olivier Chabre (9), Vincent Darrouzet (10), Brigitte Delemer (11), Rachel Desailloud (12), Bernard Goichot (13), Annabelle Esvant (14), Philippe Herman (15), Sandrine Laboureau (16), Hervé Lefebvre (17), Peggy Pierre (18), Isabelle Raingeard (19), Yves Reznik (20), Jean-Louis Sadoul (21), Martin Schlumberger (22), Antoine Tabarin (23), Igor Tauveron (24), Delphine Zenaty (25), Jerome Bertherat (26), Eric Baudin (22), Laurence Amar (27, 1), Anne-Paule Gimenez-Roqueplo (28, 1)

1. INSERM, UMR970, Paris-Centre de Recherche Cardiovasculaire, Paris, France
2. Service d'Endocrinologie, Hôpital Larrey, CHU de Toulouse, Toulouse, Toulouse, France
3. Département de Médecine Nucléaire et d'Oncologie Endocrinienne, Gustave Roussy, Villejuif, Villejuif, France
4. Service d'Endocrinologie, Centre Hospitalier Universitaire de Nantes, Hôpital Nord Laënnec, Nantes, Nantes, France
5. Service d'Endocrinologie "Centre de référence maladies rares de la surrénale", Hôpital Cochin, Assistance Publique, Hôpitaux de Paris, Paris, France
6. Service de Médecine Interne et Endocrinologie, Hôpital Henri Mondor, Créteil, Créteil, France
7. Service d'ORL, unité d'otologie, implantologie auditive et chirurgie de la base du crâne, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Hôpital Universitaire Pitié-Salpêtrière, Paris, Paris, France
8. Service d'ORL et de Chirurgie Cervico-faciale, Hôpital Foch, Suresnes, France, Suresnes, France
9. Service d'Endocrinologie, CHU de Grenoble-Alpes, La Tronche, Grenoble, Grenoble, France
10. Service d'ORL et de Chirurgie Cervico-faciale, Hôpital Pellegrin, CHU de Bordeaux, Bordeaux, Bordeaux, France
11. Service d'Endocrinologie, Diabète-Nutrition, CHU de Reims, Reims, Reims, France
12. Service d'Endocrinologie, Hôpital Nord, CHU d'Amiens-Picardie, Amiens, Amiens, France
13. Service de Médecine Interne, Endocrinologie et Nutrition, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Faculté de Médecine, Université de Strasbourg, Strasbourg, Strasbourg, France
14. Service d'Endocrinologie, CHU de Rennes, Hôpital Sud, Rennes, Rennes, France
15. Service ORL-CCF, hôpital Lariboisière, université Paris VII, AP-HP, Paris, Paris, France
16. Service d'Endocrinologie, Centre Hospitalier Universitaire d'Angers, Angers, Angers, France
17. Service d'Endocrinologie, Diabète et Maladies Métaboliques, INSERM U982, Centre Hospitalier Universitaire de Rouen, Rouen, France
18. Service d'Endocrinologie, Hôpital Bretonneau, CHU de Tours, Tours, Tours, France
19. Service d'Endocrinologie, CHU Montpellier, Hôpital Lapeyronie, Montpellier, France
20. Service d'Endocrinologie, CHU de Caen, Caen, France, Caen, France
21. Service d'Endocrinologie, Hôpital de L'Archet, CHU de Nice, Nice , Nice, France
22. Département de Médecine Nucléaire et d'Oncologie Endocrinienne, Gustave Roussy Cancer Campus, Villejuif, France
23. Service d'Endocrinologie, Hôpital Haut-Lévêque, CHU de Bordeaux, Pessac, Bordeaux, France
24. Service d'Endocrinologie, Hôpital Gabriel Montpied, CHU de Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, Clermont Ferrand, France
25. Service d'Endocrinologie Diabétologie Pédiatrique, Centre de Référence des Maladies Endocriniennes Rares de la Croissance et du développement, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Hôpital Universitaire Robert Debré, Paris, Paris, France
26. Service d'Endocrinologie , Hôpital Cochin, Assistance Publique, Hôpitaux de Paris, Paris, France
27. Service d'hypertension artérielle, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris, France
28. Service de Génétique, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris, France

Mots clefs : paragangliome ; phéochromocytome ; métastases ; SDHB ; SDHD ; SDHC ; VHL

Résumé :

Contexte
Les paragangliomes et les phéochromocytomes (PPGL) sont des tumeurs neuroendocrines ayant un fort déterminisme génétique. Environ 40 % des patients atteints sont porteurs d'une mutation constitutionnelle sur un gène de prédisposition. Le test génétique est indiqué car l'identification d'une mutation est un facteur de risque pour le sujet porteur de développer des formes multiples, malignes, ou syndromiques. Toutefois, mis à part l'intérêt du dépistage familial, il n'a pas été prouvé que l'identification d'une mutation sur un gène de prédisposition au PPGL modifiait la prise en charge et l'évolution clinique du cas index. L'objectif principal de cette étude était d'évaluer l'impact d'un test génétique positif sur la prise en charge des cas index atteints de PPGL.
Patients et méthodes

Etude cas/témoins observationnelle rétrospective multicentrique nationale. Les données initiales et de suivi de 271 cas index atteints de PPGL, porteurs d'une mutation constitutionnelle dans l'un des 4 gènes majeurs de prédisposition (*SDHB, SDHD, SDHC, VHL*) ont été reprises. Cette cohorte contient 131 patients chez qui le diagnostic génétique avait été fait plus de deux ans après le premier diagnostic de PPGL (cohorte historique) et 140 patients chez qui le diagnostic génétique avait été fait dans les deux ans suivant le diagnostic initial (cohorte témoin).

Résultats

Le nombre de formes sécrétantes, multiples, malignes ou syndromiques est équivalent dans les deux cohortes. Les patients de la cohorte historique sont significativement plus âgés que ceux de la cohorte témoin au diagnostic de PPGL (38 ans *versus* 32 ans). On observe plus de mutations *SDHD* parmi la cohorte historique (36,6 % *versus* 20,7 %). Rapporté au nombre d'années de suivi, le nombre de nouvelles localisations ou de métastases est équivalent dans les deux groupes. Cependant, les patients de la cohorte historique ont été plus souvent perdus de vue (61,8 *versus* 10,7%), et ont présenté des PGL et des métastases de plus grande taille ou une dissémination métastatique plus étendue. Ils ont aussi développé plus de complications secondaires à l'hypersécrétion catécholaminergique ou à une compression des organes de voisinage. Enfin, 183 apparentés du premier degré ont été dépistés porteurs de la mutation familiale et au moins un PPGL a été diagnostiqué chez 73 (40%) d'entre eux.

Conclusions

Ces résultats suggèrent que la connaissance du statut génétique dans la période du diagnostic initial du PPGL est bénéfique pour le patient à risque en permettant de mettre en place un suivi rapproché, d'intervenir plus tôt dans la maladie et d'en limiter ses complications. Cette étude renforce les recommandations internationales, qui jusqu'à présent, reposaient sur un faible niveau de preuves (avis d'experts)[1,2], de l'indication d'un test génétique pour chaque patient atteint de PPGL dès le diagnostic initial.

1. Lenders J Clin Endocrinol Metab 2014; 99: 1915
2. Plouin Eur J Endocrinol 2016; 174 :G1

abuffet-résuméGTE-assises2018.docx

P212 : Intérêt des analyses combinées sur l'ARN et la protéine pour l'interprétation des variations exoniques : le paradigme du gène MLH1

Auteurs :

Omar Soukarieh (1), Lucie Grodecká (2), Paul Ferrand (3), Nicole Köger (4), Thierry Frébourg (5), Guido Plotz (6), Alexandra Martins (7)

1. Inserm U1245, UNIROUEN, Normandie Univ, Centre Normand de Génomique Médicale et Médecine Personnalisée, France, Inserm, Université de Rouen et CHU de Rouen, Rouen, France
2. Molecular Genetics Laboratory, Centre for Cardiovascular Surgery and Transplantation, Brno, Czech Republic, Molecular Genetics Laboratory, Centre for Cardiovascular Surgery and Transplantation, Brno, Czech Republic, Brno, République tchèque
3. Inserm U1245, UNIROUEN, Normandie Univ, Département de Génétique, CHU de Rouen, Centre Normand de Génomique Médicale et Médecine Personnalisée, France, Inserm, Université de Rouen et CHU de Rouen, Rouen, France
4. Biomedical Research Laboratory, Department of Internal Medicine 1 and Department of Human Genetics, Universitätsklinikum Frankfurt, Frankfurt D-60590, Germany, Institute of Human Genetics, University of Bonn, Bonn D-53127, Germany, Universitätsklinikum Frankfurt, Frankfurt, Allemagne
5. Département de Génétique, CHU de Rouen, Centre Normand de Génomique Médicale et Médecine Personnalisée, Rouen, France, Inserm, Université de Rouen et CHU de Rouen, Rouen, France
6. Medizinische Klinik 1, Biomedical Research Laboratory, University of Frankfurt, Frankfurt, Germany, Universitätsklinikum Frankfurt, Frankfurt, Allemagne
7. Inserm U1245, UNIROUEN, Normandie Univ, Centre Normand de Génomique Médicale et Médecine Personnalisée, France, Inserm et Université de Rouen, Rouen, France

Mots clefs : cancer héréditaire, interprétation des variations exoniques, prédictions bioinformatiques, analyses fonctionnelles, épissage de l'ARN, expression protéique, réparation de mésappariements de l'ADN

Résumé :

Le défi actuel en Génétique Médicale n'est plus la détection des variations d'ADN mais l'interprétation de celles de signification inconnue (VSI). Une fraction non-négligeable de ces VSI pourrait avoir un impact au niveau de l'ARN et/ou de la protéine et être potentiellement délétère. Récemment, nous avons démontré que le nombre de variations exoniques qui affectent l'épissage de l'ARN est plus important que celui initialement estimé et qu'elles peuvent maintenant être prédites *in silico*. Dans cette étude, nous avons utilisé à nouveau l'exon 10 de *MLH1*, gène impliqué dans le syndrome de Lynch, comme modèle d'étude pour évaluer l'intérêt d'utiliser de méthodes complémentaires d'interprétation de VSI, notamment des méthodes *in silico* et expérimentales, axées à la fois sur l'épissage de l'ARN et sur la protéine. Dans un premier temps, 6 nouvelles variations identifiées dans l'exon 10 de *MLH1* ont été analysées pour leur effet sur des éléments exoniques régulateurs d'épissage (ESR) à l'aide d'approches *in silico* et de tests fonctionnels basés sur l'utilisation de minigènes. Ensuite, toutes les variations faux-sens détectées dans cet exon, mais pas encore bien caractérisées au niveau protéique (n=11), ont été analysées en utilisant des algorithmes axés sur les polypeptides et en effectuant des analyses expérimentales permettant d'évaluer les niveaux d'expression et d'activité des protéines MLH1 mutées. Enfin, les données *in silico* obtenues pour la totalité des variations de l'exon 10 de *MLH1* (n=28) ont été comparées avec les résultats expérimentaux obtenus ici et avec ceux déjà publiés. A notre connaissance, il s'agit de l'étude la plus extensive menée à ce jour sur un exon d'intérêt d'un gène impliqué dans une prédisposition mendélienne au cancer. Nous avons observé que les outils *in silico* dédiés aux ESR prédisent avec précision l'effet sur l'épissage des 6 nouvelles variations de l'exon 10, avec 2 variations induisant le saut de l'exon et 4 l'augmentation de son inclusion, ce qui est en accord avec nos travaux précédents. De façon intéressante, parmi les 8 algorithmes dédiés aux protéines évalués ici, 3 semblent prometteurs pour distinguer les variations faux-sens délétères de celles non-délétères. Nous avons validé cette conclusion par une analyse bioinformatique de 103 autres variations faux-sens du gène *MLH1*. Nos résultats démontrent qu'il est maintenant possible, en utilisant des méthodes *in silico*, de stratifier les variations exoniques pour des analyses expérimentales axées sur l'ARN ou sur la protéine. De plus, cette étude souligne l'importance de combiner des données fonctionnelles sur l'ARN et la protéine afin de mieux interpréter les variations génétiques. Enfin, les résultats expérimentaux de ces travaux ont des retombées directes pour le diagnostic moléculaire du syndrome de Lynch et apportent des pistes applicables à l'interprétation de toute variation identifiée par séquençage d'exome.

Abstract Assises de Génétique 2018-Soukarieh O-F.docx

P213 : Association d'une délétion au locus 22q11 et d'une duplication 22q11 sur l'allèle contro-latéral

Auteurs :

Céline POIRSIER (1), Jean-Paul BORY (2), Elisabeth ALANIO (2), ANNE CHARBONNEAU (3), Audrey LANNOY (4), Emilie LANDAIS (1), Martine DOCO FENZY (1)

1. Service de Génétique, CHU de Reims, REIMS, France
2. gynecologie, CHU de Reims, REIMS, France
3. Pédiatrie, CHU de Reims, REIMS, France
4. Genetique, CHU de Reims, REIMS, France

Mots clefs : duplication 22q11.2, deletion 22q11.2, microcephalie, fente

Résumé :

La région proximale du locus 22q11.2 contient 4 répétitions segmentaires (appelées LCR22-A à LCR22-D) favorisant l'apparition de remaniements chromosomiques par un mécanisme de recombinaison homologue non allélique, pouvant induire des duplications ou des délétions de ce locus.

Nous rapportons 4 membres d'une famille, tous porteurs d'un remaniement de cette région :

- Le cas index est un fœtus référéé au Centre Pluridiscplinaire de Diagnostic Prénatal pour hygroma avec une microcéphalie et un pied gauche en varus. L'ACPA fœtale a identifié une délétion du locus 22q11.2 entre les LCR22-A et LCR22-B d'une taille d'environ 1,5 Mb, confirmé par MLPA.
- La mère a eu des difficultés scolaires mais a obtenu un CAP, elle a une surdité, certaines particularités morphologiques et une voix nasonnée. Elle est porteuse de la délétion du locus 22q11.2 entre les LCR22-A et LCR22-B (taille d'environ 1,5 Mb), diagnostiquée par MLPA à l'occasion de l'enquête parentale;
- Le père a une surdité bilatérale et a été scolarisé en SEGPA ; il est porteur d'une duplication du locus 22q11 entre les LCR22-A et LCR22-D (taille d'environ 3 Mb) diagnostiquée par MLPA à l'occasion de l'enquête parentale;
- Ce couple avait déjà une fille, âgée de 18 mois, suivie pour un retard de croissance avec fente palatine et communication inter-auriculaire. Les analyses génétiques réalisées chez elle ont montré qu'elle est porteuse de la délétion entre les LCR22-A et LCR22-B sur un allèle et de la duplication entre les LCR22-A et LCR22-D sur l'autre allèle, diagnostiquée par FISH.

Nous discuterons des conséquences de ces remaniements, et tout particulièrement de l'association de la délétion 22q11.2 (LCR22-A et LCR22-B) et de la duplication 22q11.2 de plus grande taille (LCR22-A et LCR22-D) chez la petite fille, ainsi que de l'interet des différentes techniques cytogénétiques utilisées.

P214 : Etude de l'association de variations génétiques rares aux formes précoces de cancer colorectal

Auteurs :

Maud Blanluet (1), Françoise Charbonnier (1), Camille Le Clézio (1), Sophie Coutant (1), Pierre Fermey (1), Théry Jean-Christophe (1), Anne Boland (2), Jean-François Deleuze (2), Stéphanie Baert-Desurmont (1), Isabelle Tournier (1), Thierry Frebourg (1)

1. Inserm U1245, UNIROUEN, Normandie Univ et Département de Génétique, CHU de Rouen, Centre Normand de Génomique et de Médecine Personnalisée, Rouen, France
2. Centre National de Recherche en Génétique Humaine, Institut de Génomique, Evry, France

Mots clefs : Oncogénétique, Cancer colorectal, Etude d'association, Burden test, Réparation de l'ADN

Résumé :

Malgré certains syndromes génétiques connus et caractérisés (Syndrome de Lynch, polyposes adénomateuses et hamartomateuses), une fraction importante des cas cliniquement évocateurs d'un déterminisme génétique majeur du Cancer ColoRectal (CCR), tels qu'une agrégation familiale, une survenue précoce et/ou le développement de tumeurs primitives multiples, reste inexpliquée. L'identification de la variation causale est essentielle pour permettre une détection précoce du CCR, basée sur la chromocoloscopie, chez le patient et sa famille. L'avènement du *Next-Generation Sequencing* (NGS) et les études par *Whole Exome Sequencing* (WES) ont révélé l'étendue de la variabilité du génome humain, et en particulier le grand nombre de variations génétiques rares présents dans chaque exome. Une des hypothèses qui pourrait expliquer une partie de l'héritabilité manquante du CCR est la contribution de variants rares, dont l'association à la pathologie ne pouvait pas être détectée par les études *Genome Wide Association Study* (GWAS), antérieures au NGS. Afin d'étudier l'implication des variants rares dans le déterminisme génétique du CCR, nous avons séquencé par NGS un panel de 201 gènes impliqués dans le cancer chez 84 patients rigoureusement sélectionnés. Tous les patients inclus dans cette étude ont développé un CCR avant l'âge de 31 ans, et les diagnostics de syndrome de Lynch, de polypose adénomateuse et de polypose hamartomateuse ont été exclus. Nous avons tout d'abord filtré les variations rares (Fréquence de l'allèle mineur < 1%) prédites responsables d'une perte de fonction ou prédites délétères par les différents algorithmes. Cette stratégie nous a permis de réaliser un sauvetage diagnostique de polypose associée aux polymérases par l'identification d'une variation de classe 4 dans le gène *POLE*. Par ailleurs, nous avons détecté chez plusieurs patients la cooccurrence de différentes variations de classe 4 ou 3 localisées dans des gènes impliqués dans la réparation de l'ADN (*BRCA2, FANCL, MLH1* et *MUTYH*; *FANCD2* et *MSH2*; *XCCR2* et *MUTYH*). Dans un second temps, nous avons réalisé une étude d'association cas-témoins chez 76 patients et 552 témoins issus du *French Exome Project* (FREX), reposant sur l'utilisation de Burden tests après application rigoureuse de filtres de qualité et agrégation des variants par gène et par voie biologique (voies de réparation de l'ADN et autres). Les top hits par gène identifiés sont les gènes *SBDS* et *WT1*, dont les *p-values* n'atteignent cependant pas le seuil de significativité lorsque celui-ci est ajusté à l'exome. Bien que responsables d'autres maladies mendéliennes, l'implication de certains variants de ces gènes dans le déterminisme du CCR ne peut être exclue. En conclusion, les résultats préliminaires de ce projet, actuellement poursuivi par l'analyse de panels in silico extraits d'exomes, posent la question de la contribution de l'oligogénisme, impliquant en particulier des gènes de réparation de l'ADN, au CCR.

Abstract Assises 2018 - Variants rares et CCR.docx

P215 : Recherche de facteurs prédictifs de dysplasie/cancer dans la polypose juvénile

Auteurs :

Maxime HAMON (1), Chrystelle COLAS (2), Jean-François FLEJOU (3), Jeanne RAMOS (4)

1. Anatomo-Pathologie, Ambroise Paré, BOULOGNE-BILLANCOURT, France
2. oncogénétique, hôpital Saint-Antoine, PARIS, France
3. Anatomo-Pathologie, hôpital Saint-Antoine, PARIS, France
4. Anatomo-Pathologie, CHU de Montpellier, MONTPELLIER, France

Mots clefs : polypose juvénile, polypose hamartomateuse, dysplasie, facteurs prédictifs de dysplasie, cancer colorectal

Résumé :

Introduction : La polypose juvénile est une forme rare de polypose hamartomateuse du sujet jeune, à transmission autosomique dominante, caractérisée par la présence de multiples polypes juvéniles dans le tractus gastro-intestinal. Elle est associée à une mutation des gènes SMAD4 ou BMPR1A, impliqués dans la voie de signalisation TGFβ. Il existe un risque élevé de dysplasie et de cancer digestif, nécessitant une surveillance endoscopique précoce et régulière et parfois un traitement chirurgical lourd. Peu de facteurs prédictifs de survenue de dysplasie/cancer ont été retrouvés dans la littérature.
Objectif : Rechercher les facteurs prédictifs de survenue de dysplasie/cancer chez des patients atteints de polypose juvénile.
Matériels et méthodes : Cette étude pronostique rétrospective multicentrique a inclus 101 patients, essentiellement issus de réseaux spécialisés dans les polyposes digestives. L'analyse de la dysplasie a fait l'objet d'une double-lecture selon les critères de la classification de Vienne modifiée. Une analyse comparative a été réalisée entre les groupes « sans dysplasie/cancer » et « avec dysplasie/cancer » puis entre les groupes « sans dysplasie/cancer » et « avec dysplasie/cancer sur polype juvénile ».

Résultats : L'âge moyen de la population totale était de 42.7 ans, avec une légère prédominance masculine. Des antécédents personnels de dysplasie et de cancer étaient retrouvés dans respectivement 69.1% et 15.6% des cas. 6.4% des patients étaient décédés à un âge moyen de 49.7 ans. Une mutation génétique était diagnostiquée dans 78.2% des cas, intéressant le plus souvent le gène SMAD4 (53.1% des patients, contre 23.5% pour BMPR1A). La taille maximum des polypes était plus élevée dans le groupe « avec dysplasie/cancer » (4.3 cm contre 2.7 cm, $p = 0.007$). L'aspect endoscopique polylobé (37.2% contre 13%, $p = 0.04$) et l'architecture festonnée (91.5% contre 73.1%, $p = 0.005$) étaient plus souvent observés dans le groupe « avec dysplasie/cancer sur polype juvénile ». Il n'était pas observé de différence entre les groupes comparés pour les paramètres « présence d'une mutation génétique » et « type de mutation génétique ».
Discussion : Notre étude, qui représente une des plus importantes séries mondiales de polypose juvénile, a permis de montrer que la taille maximum des polypes, l'aspect endoscopique polylobé et l'architecture festonnée correspondent à des facteurs prédictifs de survenue de dysplasie/cancer dans la polypose juvénile. Ils pourraient être utilisés pour évaluer le risque de dysplasie et comme aide à la décision de prise en charge thérapeutique. Ces résultats seront à confirmer dans de nouvelles études. Nous recommandons par ailleurs une évaluation de la dysplasie dans la polypose juvénile par une double-lecture avec un pathologiste expérimenté en pathologie digestive, à partir du grading de la classification de Vienne modifiée.

Résumé Assises de Génétique.docx

P216 : Trouble du spectre autistique avec délétion 10q26 de novo

Auteurs :

Afef JELLOUL (1), Sarra BOUSLAH (2), Ali SAAD (1), Soumaya MOUGOU ZERELLI (1)

1. Service de cytogénétique et de biologie de la reproduction, CHU Farhat Hached , Sousse, Tunisie
2. service de psychiatrie département de pedopsychiatrie , CHU Fattouma Bourguiba , Monastir, Tunisie

Mots clefs : autism spectrum disorder, chromosome deletion, chremosomes Human pair 10

Résumé :

Autism is characterised by deficits in reciprocal social interaction,disrupted verbal and non-verbal communication,and restricted interests and repetitive behaviours,and is known to have a strong genetic component.The introduction of high resolution chromosome studies has greatly increased the yield of positive findings in children with autism.
Genetic linkage and chromosome aberration studies are converging to highlight significant autism loci and their candidate genes,promoting consideration of genetic screening that could recognize autism susceptibility when therapy can be most effective.
Here we describe a3year-old boy with high functioning autism , developmental delay and mental retardation, his facial appearance does not show the common dysmorphic features. Brain MRI studies were normal.Routine karyotyping revealed46,XY.
In the CGH array Agilent44K a de novo10q26deletion was detected with7.9Mb in size and contained 60RefSeq genes.The deletion was confirmed byFISH.
The presence of deletion10q26 in the patient but not in her parents correlates with other studies linking that chromosome region with mental disability and autistic behaviors.The phenotypic effects of terminal10q deletion become more specific as the amount of missing material becomes less;Patients with small or submicroscopic 10q deletions associate minimal dysmorphology,intellectual disability and autism.
The study case and others with10q26 deletions add another autism-susceptibility region;Plausible candidate genes affecting neurogenesis and pattern formation,synaptic channels,neurotransmitter paths,or adhesion and miscellaneous functions are present in these regions.Similar candidates in the 10q26 region include protein tyrosine phosphatase(PTPRE),transforming acidic coiled-coil containing protein2(TACC2),a Gprotein-coupled-receptor26(GPR26)and 2homolog-homeotic-gene(EMX2);all are expressed in brain and the latter gene was mutated in a form of schizencephaly.
Multifactorial determination predicts interaction among genes on10q with other genes involved in signal transduction pathways that coordinate neurogenesis and synaptic function.The severity and extent of clinical characteristics associated with10q26 deletions may depend on the varying locations and sizes of these deletions and the number of haploinsufficient genes in deleted regions.

10q26 del TSA.docx

P217 : Recherche de mutations du gène EGFR par immunohistochimie ciblée de biopsies de cancers bronchiques non à petites cellules à faible pourcentage tumoral

Auteurs :

Zohra MRAIHI (1), Jihen BEN AMAR (2), Hend BOUACHA (2), Soumaya RAMMEH (3), Lamia HILA (4)

1. Génétique, Faculté de médecine de Tunis, Tunis, Tunisie
2. Pneumologie, EPS Charles Nicolle, Tunis, Tunisie
3. Anatomie et Cytologie Pathologiques, EPS Charles Nicolle, Tunis, Tunisie
4. Génétique, Faculté de médecine de Tunis-Université Tunis El Manar, Tunis, Tunisie

Mots clefs : EGFR, immunohistochimie, cancer du poumon

Résumé :

La recherche des mutations du gène EGFR sur les prélèvements de cancers bronchiques non à petites cellules devient incontournable pour la prise en charge thérapeutique des patients. L'estimation du pourcentage des cellules tumorales est une donnée importante pour l'interprétation des résultats de biologie moléculaire en fonction de la sensibilité de la technique utilisée. Elle correspond au nombre de cellules tumorales par rapport au nombre total de toutes les cellules confondues présentes au niveau de la zone sélectionnée. Jusqu'à récemment, la tendance était de fixer un seuil (> 20) pour réaliser des analyses moléculaires. Pour ceux n'atteignant pas ce seuil, on était amené à demander un autre prélèvement pour le patient. Il était également établi que si aucune mutation n'était décelée au seuil indiqué, le test moléculaire était déclaré non contributif et le prélèvement histologique devait être renouvelé. Par contre, si une mutation était identifiée, l'analyse était contributive et validée, quel que soit le pourcentage de cellules tumorales. Il faut cependant noter que l'estimation du pourcentage de cellules tumorales est discordante d'un observateur à un autre d'où l'importance d'une standardisation du calcul.
Nous rapportons les résultats de 7 cas de biopsies incluses en paraffine, renfermant entre 1 à 10% de cellules tumorales, analysés par immunohistochimie ciblée avec les anticorps EGFR E746-A750 del (exon 19 et L858R (exon 21). Nous avons retrouvé des mutations de l'exon 21 dans 5 cas, 3 ayant une cellularité tumorale de 10% et 2 à 5%. Une relecture des coupes a confirmé le faible pourcentage de cellules tumorales et l'analyse moléculaire par séquençage a corroboré l'existence de la substitution Leu858Arg qui est retrouvé dans environ 45 % des cancers bronchiques non à petites cellules.
La faible teneur en cellules tumorales d'un échantillon et le seuil usuel de 20 % largement utilisé dans les publications rapportées dans la littérature ne devraient pas être un frein à l'étude moléculaire notamment pour les biopsies pulmonaires qui sont majoritairement de petite taille, critère ayant d'ailleurs été à l'origine de la dernière classification des cancers du poumon par l'OMS en 2015.
Les recommandations de l'association française d'assurance qualité en anatomie et cytologie pathologiques qui a présenté, début 2017, une méthodologie simplifiée du rendu de l'estimation du pourcentage de cellules tumorales (< 5%, 5-15%, 15-25%, 25-50% et > 50%) étayent nos résultats. Cette estimation correspondrait mieux à une pratique des tests moléculaires dont la sensibilité analytique est variable et remplace actuellement la répartition usuelle des échantillons en cellularité faible/moyenne (< 30 %) et forte (≥ 30%) selon les tranches successives : < 1%, 1-4%, 5-9%, 10-14%, 15-19%, 20-24% et 25-29% et 30%, 50%, 80% et 100% respectivement.

Résumé 1 assises de génétique 2018.docx

P218 : Etude de la radiosensibilité dans la neurofibromatose de type 1

Auteurs :

Stéphane Pinson (1), Patrick Combemale (2), Nicolas Foray (3)

1. Service de Génétique Clinique et Moléculaire / Centre de Reférence Neurofibromatoses Auvergne Rhône-Alpes , Groupement Hospitalier Est - HCL , Lyon, France
2. Dermatologie / Centre Neurofibromatoses Rhône-Alpes Auvergne, Centre Léon Bérard, Lyon, France
3. Equipe Inserm UMR 1052, Centre Léon Bérard, Lyon, France

Mots clefs : Cancer radio-induit, Neurofibromatose type 1, Radiosensibilité

Résumé :

Choix du type de présentation: Communication orale
Introduction: La NF1 est une génodermatose autosomique dominante causée par une mutation du gène NF1 (chromosome 17) qui entraine une altération fonctionnelle de la neurofibromine. Cette protéine a une fonction régulatrice de la voie RAS. Dans la NF1, sa perte d'hétérozygotie est associée avec les proliférations tumorales témoignant d'un état cellulaire instable et soulève la question des risques des radiations ionisantes.
Nous rapportons les résultats d'un travail original testant la radiosensibilité de ces patients.
Matériel et Méthodes: Tout patient de plus de 18 ans (à l'exception des femmes enceintes), présentant une NF1 selon les critères de NIH et ayant donné leur consentement écrit, ont bénéficié d'une recherche moléculaire constitutionnelle du gène NF1 et d'une biopsie de 3 mm en peau saine pour mise en culture.
Les cellules en cultures sont irradiées à 2 Gy puis la technique d'immunofluorescence est appliquée avec les marqueurs de protéines de cassures de l'ADN : γH2AX, pATM et MRE11, 10 min, 1h, 4h puis 24 h après irradiation.
Le nombre de foci nucléaires formés par les sites de cassure double-brin (CDB) est quantifié. Les cinétiques d'apparition/disparition des foci renseignent sur le rythme de reconnaissance et de réparation des CDB. La vitesse de transit cytonucléaire d'ATM (ataxia telangiectasia mutated proteine) détermine la radiosensibilité du patient.
Résultats: 40 patients ont été inclus et tous présentent à des degrés divers un défaut de réparation de leur ADN. Une analyse phénotype/génotype n'a pas détecté un profil particulier selon le degré de radiosensibilité. Au sein d'une même famille, on trouve également une hétérogénéité de radiosensibilité.
Discussion: Il s'agit du premier travail démontrant que les patients atteints de NF1 ont une mauvaise réparation de leur ADN après irradiation. Cela permet de classer la NF1 dans le groupe 2 à risque de réaction secondaire aigue après irradiation et de risque de cancer radio induit (radiosusceptibilité) au même titre que le Li Fraumeni et le Xeroderma Pigmentosum.
La mutation de la neurofibromine serait responsable d'un retard du transit cytonucléaire d'ATM après irradiation aboutissant à des taux anormalement élevées de CDB non ou mal réparées, source de cicatrice mutationnelle de l'ADN. Cependant l'hétérogénéité de sensibilité chez nos 40 patients y compris au sein d'une même famille pourrait s'expliquer par des phénomènes épigénétiques. Ces résultats doivent inciter à la prudence lors de la prescription d'examens irradiants surtout répétitifs de patients NF1 en particulier chez l'enfant.
Conclusion: Ce travail permet d'envisager des thérapeutiques préventives de ce risque (intérêt des statines par exemple) et ouvre la perspective - en cas d'irradiation thérapeutique - de pouvoir personnaliser les doses émises en fonction de la radiosensibilité du patient et de la tumeur.

P219 : Faut-il rechercher les mutations constitutionnelles de TP53 chez les femmes ayant présenté un choriocarcinome gestationnel ?

Auteurs :

Anne-Claire Bréhin (1), Sophie Patrier-Sallebert (2), Gaelle Bougeard-Denoyelle (1), Gwendoline Side-Pfennig (3), Jérome Massardier (4), Touria Hajri (5), Sylvie Odent (6), Jean-Christophe Sabourin (2), Francois Golfier (5), Laurence Brugières (7), Thierry Frebourg (1)

1. Département de Génétique, CHU de Rouen et Inserm U1245, Normandie Univ, Centre Normand de Génomique et de Médecine Personnalisée, Rouen, France
2. Département d'anatomopathologie, CHU de Rouen, Rouen, France
3. Département d'anatomopathologie, CHU de ROUEN, Rouen, France
4. Centre de Référence Français des Maladies Trophoblastiques, CHU Lyon Sud, LYON, France
5. Centre de Référence Français des Maladies Trophoblastiques, CHU Lyon Sud, Lyon, France
6. Département de Génétique, CHU de Rennes, Rennes, France
7. Département de pédiatrie, Institut Gustave Roussy, Villejuif, France

Mots clefs : choriocarcinome; choriocarcinome gestationnel, maladies trophoblastiques, syndrome de Li-Fraumeni, TP53.

Résumé :

Le choriocarcinome est une tumeur très agressive qui résulte de la prolifération maligne de cellules trophoblastiques. Cette tumeur est, soit de nature gestationnelle, secondaire à une grossesse môlaire ou non môlaire, soit de nature germinale non gestationnelle. La distinction entre ces deux entités est essentielle à la prise en charge car leur pronostic et leur thérapeutique diffèrent. Le choriocarcinome gestationnel est une tumeur exceptionnelle survenant lors d'une grossesse sur 50 000 et remarquable dans son oncogenèse puisqu'elle contient du matériel génétique provenant du géniteur et son diagnostic repose sur la mise en évidence des allèles des 2 parents. Ses bases génétiques ne sont pas connues, mais nous avons rapporté récemment plusieurs cas suggérant l'implication de mutations constitutionnelles de *TP53*, à l'origine du syndrome Li-Fraumeni (LFS). La première observation est la survenue d'un choriocarcinome gestationnel broncho-pulmonaire comme première tumeur chez une patiente âgée de 30 ans porteuse d'une mutation constitutionnelle de *TP53,* issue d'une famille atteint d'un LFS. Cette patiente a guéri de son choriocarcinome mais a développé, 10 mois plus tard, un carcinome mammaire infiltrant. La deuxième observation, plus spectaculaire, est celle d'un choriocarcinome gestationnel métastatique diagnostiqué 13 mois après une grossesse normale, chez la conjointe, âgée de 35 ans, d'un homme porteur d'une mutation constitutionnelle de *TP53*. L'analyse du choriocarcinome a révélé la présence, dans la tumeur, de la mutation paternelle *TP53*, mutation transmise au nouveau-né décédé à 11 mois du même choriocarcinome. Nous avons estimé que le choriocarcinome gestationnel survenait dans environ 1/100 des grossesses issues de conjoints porteurs d'une mutation de *TP53*, sachant que les données n'ont pas été recueillies de façon systématique, ce qui représenterait un risque relatif de 500x. Le rôle des mutations constitutionnelles de *TP53* pourrait s'expliquer par leur effet permissif lors de la survenue d'un stress oncogénique, telle une maladie trophoblastique. Dans le contexte actuel de la mise en place de protocoles de surveillance chez les porteurs de mutations de *TP53*, ces observations nous incitent à proposer systématiquement devant tout cas de choriocarcinome, dont la nature gestationnelle a été démontrée, une consultation de génétique pour rechercher une mutation constitutionnelle non seulement chez la patiente mais aussi chez son conjoint. L'objectif est de confirmer la contribution des mutations constitutionnelles de *TP53* dans la genèse des choriocarcinomes gestationnels, ce qui conduirait à proposer à toute femme enceinte porteuse d'une mutation constitutionnelle de *TP53* ou dont le conjoint est porteur d'une mutation, un suivi régulier de son taux de βhCG après la grossesse et, en cas de choriocarcinomes gestationnels, de favoriser l'approche chirurgicale en évitant la chimiothérapie, exposant au risque de tumeurs secondaires.

P220 : Association Syndrome de Klinefelter et anémie de Fanconi : Est-ce vraiment fortuit ?

Auteurs :

Abir BEL HADJ ALI (1), Wiem AYED (1, 2), Yasmine EL AYEB (1, 2), Héla BELLIL (1), Hend CHAKER (1), Sondes HDIJI-MSEDDI (3), Ahlem AMOURI (1, 2)

1. Histologie et Cytogénétique Médicale, Institut Pasteur de Tunis, Tunis, Tunisie
2. Faculté de Médecine de Tunis, Université Tunis El MANAR, Tunis, Tunisie
3. Hématologie Clinique, Hôpital Hédi CHAKER, Sfax, Tunisie

Mots clefs : Anémie de Fanconi, Syndrome de Klinefelter, caryotype, instabilité chromosomique

Résumé :

Le syndrome de Klinefelter (SK) est défini par la présence d'un ou plusieurs chromosomes X surnuméraires chez un sujet de phénotype masculin. Asymptomatique au début, il se manifeste à la puberté par un hypogonadisme et une gynécomastie.
L'anémie de Fanconi (AF) est une maladie héréditaire rare caractérisée par une hétérogénéité clinique et génétique découverte le plus souvent à la suite de manifestations hématologiques.
Nous rapportons l'observation d'un garçon qui présente à la fois un SK et une AF.
HS est un garçon issu d'un mariage endogame qui nous est adressé du Service d'Hématologie Clinique pour aplasie médullaire et des signes évocateurs d'une AF.
Le test d'instabilité chromosomique en présence de Mitomycine C retrouve une instabilité chromosomique très franche confirmant le diagnostic d'anémie de Fanconi. Par ailleurs, une formule à 47,XXY est retrouvée sur les métaphases marquées en bandes RHG.
A travers cette observation et une revue de la littérature, nous rappelons les caractéristiques cliniques de ces deux syndromes et nous insistons sur la nécessité de la réalisation de marquages chromosomiques lors de la réalisation du test d'instabilité.

ASSOCIATION SYNDROME DE KLINEFELTER ET ANEMIE DE FANCONI_Abstract Asises de génétique 2018.pdf

P221 : Cancer du poumon non à petites cellules : analyse moléculaire d'une série tunisienne

Auteurs :

Zohra MRAIHI (1), Mouna Trabelsi (2), Jihen BEN AMAR (3), Hend BOUACHA (3), Soumaya RAMMEH (4), Faten FARAH (2), Lamia HILA (1)

1. Génétique, Faculté de médecine de Tunis-Université Tunis El Manar, Tunis, Tunisie
2. Anatomie et Cytologie Pathologiques, Institut Mohamed Kassab, Tunis, Tunisie
3. Pneumologie, EPS Charles Nicolle, Tunis, Tunisie
4. Anatomie et Cytologie Pathologiques, EPS Charles Nicolle, Tunis, Tunisie

Mots clefs : KRAS, EGFR, Cancer du poumon

Résumé :

La prise en charge du cancer de poumon non à petites cellules a connu de très importantes avancées thérapeutiques notamment pour les stades avancés grâce à la découverte de nouvelles cibles permettant la mise en place d'un arsenal thérapeutique plus efficace.
Le récepteur du facteur de croissance épidermique (EGFR) et le gène Kirsten rat sarcoma viral oncogene (KRAS) sont reconnus pour être impliqué dans le cancer du poumon non à petites cellules (CBNPC). Les études sont principalement axées sur la détection du gène EGFR pour le CBNPC à un stade avancé car la réponse au traitement dépendra du profil mutationnel de chaque patient. Nous avons réalisé l'analyse moléculaire à la recherche des mutations les plus fréquentes des gènes EGFR et KRAS pour une série de patients tunisiens présentant un CBNPC par immunohistochimie ciblée et séquençage direct, à partir de tissus fixés et inclus en paraffine. Le type histologique le plus fréquent retrouvé a été l'adénocarcinome. Il s'agissait majoritairement de patients masculins tous fumeurs. Les résultats de l'analyse moléculaire seront discutés et corrélés aux données cliniques et aux résultats anatomopathologiques. Cette étude a été réalisée dans le but d'évaluer la pertinence de la mise en place d'une thérapie ciblée sachant que la résection chirurgicale et/ou l'association radiothérapie/chimiothérapie sont les deux options curatives généralement utilisées en Tunisie.

Résumé 2 assises génétique 2018.docx

P222 : Faible risque de cancer embryonnaire dans le spectre hypertrophique lié aux mutations PIK3CA en mosaïque

Auteurs :

Jean-Charles Crépin (1, 2), Virginie Carmignac (3), Caroline Abadie (4), Annabel Maruani (5), Yannis Duffourd (3), Patrick Callier (3), Christophe Philippe (3), Christel Thauvin (3), Paul Kuentz (3), jean-baptiste Rivière (6), Laurence Faivre (3, 7), Pierre Vabres (3, 1)

1. dermatologie, CHU Dijon, dijon, France
2. UMR 1231 , équipe GAD , dijon , France
3. UMR 1231 , équipe GAD , dijon, France
4. Département de génétique clinique, CHU rennes, rennes, France
5. dermatologie, CHU tours, tours, France
6. Département de génétique humaine, Mc gill institute, montreal, Canada
7. Département de génétique clinique, CHU Dijon, dijon, France

Mots clefs : PIK3CA, PROS, néphroblastome, cancer

Résumé :

Introduction : Le spectre des hypertrophies liées à *PIK3CA* (*PIK3CA-Related Overgrowth Spectrum* ou *PROS*) englobe les conséquences cliniques des mutations activatrices de *PIK3CA* en mosaïque (syndromes de Klippel-Trenaunay, CLOVES, MCAP). Des mutations somatiques de *PIK3CA* sont impliquées dans divers cancers. Il existe dans d'autres syndromes hypertrophiques tels que le syndrome de Beckwith-Wiedemann un risque accru de néphroblastome qui motive un dépistage. Dans le *PROS*, même si le risque de cancer est mal connu, des échographies de dépistage répétées ont été recommandées. Nous avons évalué le risque de cancer dans une cohorte de patients *PROS* afin d'apprécier la pertinence de ces recommandations.
Matériel et méthodes : Les données de 131 patients porteurs d'une mutation post-zygotique *PIK3CA* en tissu atteint ont été analysées grâce à un questionnaire rétrospectif centré sur les modalités de surveillance et la survenue de cancers.
Résultats : Les donnée cliniques ont pu être recueillies chez 110 patients (85,5%). Parmi eux, 101 (92%) ont eu un suivi clinique itératif. L'âge médian à la dernière visite était de 7 ans et 9 mois (1 - 52 ans). Une recherche systématique initiale de cancer par imagerie abdominale (échographie : 37 patients, scanner ou IRM : 18) a été effectuée chez 44 patients (40,0%). La surveillance ultérieure a comporté un examen clinique plus d' 1 fois par an chez 43 patients, une fois par an ou moins chez 58 patients (57.4%). Une surveillance ultérieure par imagerie itérative a été effectuée chez 35 patients (34,6%), dont 15 (14.8%) ont eu un suivi échographique abdominal tous les 6 mois ou plus souvent. Chez 54 patients (53,5%), aucune imagerie systématique de suivi n'a été réalisée. Seules deux patientes ont développé un cancer (1.8%) : un adénocarcinome gastrique à 52 ans dans les suites d'une gastrite chronique atrophiante, et un néphroblastome du rein gauche, diagnostiqué à 9 ans par surveillance échographique annuelle depuis la naissance. A l'âge de 3 ans, une masse de 2 cm de diamètre avait été identifiée et avait disparu à l'âge de 6 ans. Cette patiente présentait une hypertrophie avec malformation vasculaire étendue du membre inférieur droit et de l'abdomen.
Discussion : A ce jour, seuls 6 cas de néphroblastomes ou de reliquats néphrogéniques ont été rapportés chez 431 patients mutés *PIK3CA* (en incluant notre cohorte de 110 patients - la plus grande à ce jour). Une mutation p.His1047Leu/Arg, fortement oncogénique, était présente chez tous les patients sauf un. Une revue systématique de la littérature n'avait pas retrouvé d'augmentation du risque de néphroblastome dans les syndromes de Klippel-Trenaunay et MCAP. Le risque de cancer dans le PROS apparaît donc inférieur à celui des autres syndromes hypertrophiques. Il pourrait dépendre de l'étendue du mosaïcisme tissulaire. Il n'existe pas suffisamment d'éléments pour recommander une surveillance systématique.

P223 : Variabilité phénotypique intrafamiliale d'une délétion terminale 4q34.1-q35.2

Auteurs :

Houda Karmous-Benailly (1), Véronique Duboc (1), Morgane Plutino (1), Gwenn-Marie Verzat (2), Alice Vieira (3), Céline Aimé (4), Amandine Billiaux-Paty (5), Fabienne Giuliano (1)

1. Génétique Médicale, Hôpital Archet II, CHU Nice, Nice, France
2. Médecine Néonatale, Hôpital Archet II, CHU de Nice, nice, France
3. Service de Génétique Médicale, Hôpital Archet II, CHU de Nice, Nice, France
4. Génétique Médicale, Hôpital Archet II, CHU de Nice, Nice, France
5. Pédiatrie, CHPG, Monaco, Monaco

Mots clefs : ACPA,délétion terminale 4q, variabilité phénotypique

Résumé :

Les délétions terminales du bras long du chromosome 4 sont des évènements rares dont l'incidence approximative est estimée à 1/100 000. Elles sont associées à un large spectre phénotypique incluant un retard de croissance, un déficit intellectuel (DI), des anomalies cranio-faciales, palatines, squelettiques, des anomalies du 5ème doigt, ainsi que des malformations urogénitales et cardiovasculaires. La variabilité phénotypique dépend notamment de la taille de la délétion et des régions chromosomiques impliquées. Les délétions impliquant la région 4q34-qter peuvent être responsables de tableaux cliniques modérés avec notamment un DI léger à modéré, et des caractéristiques dysmorphiques discrètes et dans certains cas, elles sont associées à un phénotype de syndrome de délétion 22q11.2.
Nous rapportons les cas de 2 jumeaux, un garçon et une fille pour lesquels un avis génétique est demandé dès la naissance dans le cadre d'un bilan pour RCIU inexpliqué chez J1 (le garçon) et ''dysmorphie''. La grossesse a été marquée par une HTA gravidique à 33SA puis une pré-éclampsie à 35SA+1j, ayant conduit à une naissance par césarienne en urgence à 35SA+4 jours. Lors de la consultation de suivi de génétique, à 6 mois de vie, le garçon présentait une dysmorphie faciale, un retard du développement, des anomalies modérées des orteils et des ongles. Sa sœur, présentait une dysmorphie faciale avec une protrusion de la langue, et les mêmes caractéristiques des pieds et des ongles que son frère en moins prononcées. A l'issue de la consultation, une Analyse Chromosomique sur Puce à ADN (ACPA) a été prescrite.
L'ACPA a mis en évidence un gain d'environ 283 Kb au niveau de la région 4p16.3 du bras court d'un chromosome 4, associé à une perte d'environ 16Mb du segment 4q34.1-q35.2 du bras long d'un chromosome 4. Ces CNV ont été vérifiés par l'établissement du caryotype et par FISH avec des sondes des régions d'intérêt qui ont permis de mettre en évidence la présence d'un chromosome 4 à type de der(4)(pter-- > q34.1::p16.3-- > pter). L'analyse chromosomique des parents a été réalisée montrant que le père était porteur du même der(4) que ses 2 enfants. Par la suite, les enfants et le père ont été revus en consultation de génétique permettant ainsi d'affiner la description phénotypique de chacun.
Les phénotypes des enfants et du père seront présentés, ainsi que les analyses chromosomiques ; et enfin une revue de la littérature des délétions 4q34-qter sera réalisée afin de tenter de mieux caractériser la présentation phénotypique des patients porteurs d'une délétion 4q34qter.

P224 : Une nouvelle perspective sur l'origine génétique des présentations cliniques du syndrome d'alpha-thalassémie-déficience intellectuelle associé au chromosome 16.

Auteurs :

Véronique Duboc (1), Morgane Plutino (1), Christel Barth (1), Christophe Massol (1), Amandine Billiaux-Paty (2), Houda Karmous-Benailly (1), Fabienne Giuliano (1)

1. Service de Génétique Médicale, Hôpital Archet II, CHU de Nice, NICE, France
2. Service de Pédiatrie, C.H.P.G., MONACO, Monaco

Mots clefs : cytogénétique, ATR-16, CACNA1H, GNPTG, déficience intellectuelle, épilepsie

Résumé :

Le syndrome d'alpha-thalassémie - déficit intellectuel associé au chromosome 16 (syndrome ATR-16), un syndrome de délétion de gènes contiguës, est une forme d'alpha-thalassémie caractérisée par une microcytose, une hypochromie, un taux d'hémoglobine normal ou une légère anémie, et des anomalies de développement incluant une déficience intellectuelle variable, des particularités anatomiques (dysmorphie variable, microcéphalie, petite taille, anomalies des extrémités) et dans certains cas de l'épilepsie. Seule une vingtaine de cas ont été reportés à l'heure actuelle. Si les causes génétiques de l'alpha-thalassémie sont relativement bien décrites et sont dues, en particulier, à la délétion télomérique du cluster de gènes de l'alpha-globine, la contribution de l'haplo-insuffisance des autres gènes compris dans ces délétions à l'émergence de la déficience intellectuelle, la dysmorphie et autres signes cliniques associés reste à déterminer. Nous rapportons ici le cas d'une jeune fille de douze ans, porteuse d'une délétion interstitielle du bras court d'un chromosome 16 en 16p13.3. Cette délétion *de novo* mise en évidence par CGH-array d'une taille d'environ 170Kb est adjacente au cluster de gènes d'alpha-globine. La fillette présente un retard des acquisitions avec une compréhension verbale chutée. Elle présente également, une microcéphalie (-2DS), une petite taille (-1DS) et un faible poids (inf. au 3ème percentile). On note également une crise épileptique inaugurale ainsi que des particularités au niveau du visage et des extrémités. La délétion impacte notamment les gènes *CACNA1H* codant pour un canal calcique impliqué dans l'épilepsie idiopathique généralisée, et le gène *GNPTG* (UDP-N-acetylglucosamine:lysosomal-enzyme N-acetylglucosamine-1-phosphotransferase) impliqué dans la mucolipidose de type 3 gamma. L'impact probable de la délétion de ces gènes dans la genèse du phénotype chez notre patiente permet plus largement de clarifier les bases moléculaires du syndrome ATR-16.

P225 : Caractérisation par ACPA d'une duplication de 9,3 Mb en Xp11.22p11.3 associée à une déficience intellectuelle chez une petite fille

Auteurs :

ELLEN HAMMOUCHE (1), SANDRINE VONWILL (1), SOPHIE BLESSON (1), ANNE CHARLOTTE D'HARDIVILLIERS (1), ANNICK TOUTAIN (1), NORA CHELLOUG (1)

1. génétique, hopital Bretonneau, TOURS, France

Mots clefs : déficience intellectuelle ; duplication Xp ; ACPA ; CNV

Résumé :

Nous rapportons l'observation d'une fillette de 4 ans atteinte d'un retard global de développement d'intensité modérée, associé à des troubles du comportement, à une dysmorphie faciale, à une microcéphalie mineure postnatale évolutive à -3.6 DS (dans un contexte de microcéphalie paternelle à -3.5 DS) et à des troubles de l'architectonie cérébrale (corps calleux épais). L'étude cytogénétique (caryotype en haute résolution, FISH, inactivation de l'X) a mis en évidence une duplication du bras court d'un chromosome X en Xp11.22p11.4 et un biais d'inactivation en faveur du chromosome X dupliqué. Ce remaniement a été caractérisé par Analyse Chromosomique sur puce à ADN (ACPA) qui a permis de préciser les points de cassure (Xp11.3p11.22) et la taille du gain (environ 9,3 Mb). La duplication détectée inclut le syndrome de microduplication Xp11.22p11.23 récurrent de 4,5 Mb dont l'ensemble des signes cliniques sont présents chez la patiente. Afin d'établir une corrélation génotype-phénotype, nous avons réalisé une étude familiale partielle et effectué une recherche bibliographique nous permettant d'émettre une hypothèse sur le rôle pathogène de ce CNV (publications rapportant des patients porteurs d'une duplication similaire ou chevauchante ; étude des gènes englobés dans le CNV décrit, en précisant qu'au moins 16 d'entre eux sont impliqués dans la DI syndromique ou non syndromique).

poster assises 2018.docx

P226 : ETUDE TUMOSPEC : 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.

Auteurs :

Séverine Eon-Marchais (1), Fabienne Lesueur (2), Charly Kengne Kuetche (3), Florence Coulet (4), Chrystelle Colas (5), Capucine Delnatte (6), Claude Houdayer (7), Christine Lasset (8), Michel Longy (9), Dominique Vaur (10), Jérôme Lemonnier (11), Dominique Stoppa-Lyonnet (12), Catherine Nogues (13), Olivier Caron (14), Nadine Andrieu (2), . GGC (15)

1. , Inserm U900 - Institut Curie - Mines ParisTech, Paris, France
2. Inserm U900 - , Institut Curie - PSL Research University - Mines ParisTech, Paris, France
3. Inserm U900 - , Institut Curie - PSL Research University - Mines ParisTech, Paris, France
4. UF d'oncogénétique et d'angiogénétique moléculaire, Centre de génétique moléculaire et chromosomique, CHU Paris-GH La Pitié Salpêtrière-Charles Foix, Paris, France
5. Service de Génétique, Institut Curie, Paris, France
6. Unité d'Oncogénétique, Centre René Gauducheau, Nantes Saint Herblain, France
7. Institut Curie, , Inserm U830, Université Paris-Descartes, Paris, France
8. , Université Claude Bernard Lyon 1, CNRS UMR 5558, Centre Léon Bérard, Lyon, France
9. , Institut Bergonié, Bordeaux, France
10. Laboratoire de biologie et de génétique du cancer; , Département de BioPathologie; CLCC François Baclesse; 3 Avenue du Général Harris, Caen, France
11. R&D, UNICANCER, Paris, France
12. , Institut Curie, Inserm U830, Université Paris-Descartes, Paris, France
13. IPC, , Département d'Anticipation et de Suivi des Cancers, Marseille, France
14. Service d'Oncologie Génétique, Institut de Cancerologie Gustave Roussy, Villejuif, France
15. Unicancer, ., Paris, France

Mots clefs : prédisposition génétique, cancer, mutation, risque familial

Résumé :

L'analyse des gènes *BRCA1*, *BRCA2* et *PALB2* chez les personnes dont l'histoire personnelle et familiale est évocatrice de prédisposition au cancer du sein ou de l'ovaire permet des recommandations personnalisées de prise en charge aux porteurs d'une mutation et à leurs apparentés. Lorsque le test génétique est négatif, un risque élevé de cancer ne peut être exclu et les conseils de prise en charge en sont compliqués. L'utilisation du séquençage à haut débit permet aujourd'hui aux laboratoires de diagnostic d'analyser en parallèle d'autres gènes de prédisposition au cancer, cependant le bénéfice clinique de l'analyse de la plupart de ces gènes reste à évaluer.
TUMOSPEC est une étude familiale nationale dont le but est d'estimer le risque absolu de cancer pour les porteurs de variants prédits comme délétères dans l'un de ces autres gènes et de décrire le spectre d'expression de ces variants. Les gènes analysés sont impliqués dans la réparation de l'ADN et/ou dans la prédisposition au cancer à d'autres organes. Le panel TUMOSPEC est composé de 14 gènes mis en évidence dans des études familiales ou de type cas-témoins (*ATM, BAP1, BARD1, BRIP1, CHEK2, FANCM, FAM175A, MRE11A, NBN, RAD50, RAD51B, STK11, RINT1* et *XRCC2*) et de 10 gènes « actionnables » pour lesquels des recommandations spécifiques de prise en charge ont été définies (*PALB2, MLH1, MSH2, MSH6, PMS2, CDH1, PTEN, RAD51C, RAD51D* et *TP53*). Sont inclus dans l'étude des cas index auxquels une analyse de *BRCA1/2* et *PALB2* est proposée dans le cadre du soin, reçus consécutivement dans l'un des centres du Groupe Génétique et Cancer (GGC Unicancer). Si un variant délétère dans l'un des gènes « non actionnables » du panel est identifié, la plateforme d'investigation en génétique et épidémiologie (PIGE) invite les apparentés de 1er et 2nd degré, atteints ou non de cancer. Si le variant se trouve dans un gène « actionnable », les apparentés sont invités lors de la consultation d'oncogénétique prévue dans le cadre du soin. Pour chaque apparenté, une analyse ciblée sur le variant familial est réalisée sur un prélèvement d'ADN salivaire. Chaque participant répond à un questionnaire épidémiologique sur ses antécédents médicaux et son exposition à divers facteurs de risque. L'ensemble des données, familiales, médicales, épidémiologiques et génétiques, est centralisé par la PIGE. Pour chaque gène, la fréquence et la pénétrance des variants seront estimées. A terme, les résultats de TUMOSPEC contribueront à la rédaction des recommandations de prise en charge et ainsi au transfert de l'analyse de ces gènes, de la recherche au soin.
TUMOSPEC est promue par UNICANCER et implique aujourd'hui 45 consultations d'oncogénétique et 14 laboratoires de diagnostic du GGC. L'ANSM et le CPP ont rendu un avis favorable les 17/10/2016 et 13/03/2017. L'étude pilote pour tester la faisabilité du projet sur 150 familles a débuté en septembre 2017 et est soutenue par l'Institut National du Cancer et le ministère de la Santé (PRT-K15).

Abstract_Tumospec_assises-2018_vf.docx

P227 : Recherche par criblage génétique de vulnérabilités liées à la perte de fonction du PRC2 dans les MPNST associés à la NF1

Auteurs :

Eric Pasmant (1), Michel Wassef (2), Armelle Luscan (1), Aude Battistella (2), Sophie Richon (3), Camille Tlemsani (1), Ingrid Laurendeau (1), Virginie Dangles-Marie (4), Didier Surdez (5), Olivier Delattre (5), Michel Vidaud (1), Raphaël Margueron (2)

1. Service de Génétique et Biologie Moléculaire, Hôpital Cochin, Paris, France
2. BDD, UMR 3215 CNRS, U934 INSERM, Institut Curie, Paris, France
3. CNRS, UMR 144, Institut Curie, Paris, France
4. Département de Recherche Translationnelle, Institut Curie, Paris, France
5. INSERM U830, Institut Curie, Paris, France

Mots clefs : NF1 ; MPNST ; PRC2 ; SUZ12 ; CRISPR/CAS9

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. Dans le cadre d'une étude collaborative internationale, nous avons identifié des altérations perte de fonction des gènes *SUZ12* et *EED* dans la majorité des MPNST (De Raedt et al. 2014). *SUZ12* et *EED* codent deux membres du PRC2 (*Polycomb Repressive Complex 2*), complexe modificateur de la chromatine, responsable de la di- et tri-méthylation de la lysine 27 de l'histone 3, associée au maintien de la répression transcriptionnelle. Des vulnérabilités associées à la perte de fonction du PRC2 dans les cellules de Schwann *NF1-/-* pourraient constituer de nouvelles cibles thérapeutiques des MPNST. Grâce à des approches d'édition du génome de type CRISPR/CAS9, nous avons inactivé le PRC2 au sein de cellules de Schwann immortalisées dérivées d'un neurofibrome de patient atteint de neurofibromatose de type 1. Nous avons ensuite utilisé ces cellules isogéniques sauvages et mutantes (*SUZ12-/-*) pour identifier les gènes dont l'inactivation serait synthétique léthale avec perte du PRC2. Nous avons mis en œuvre un crible génétique de léthalité synthétique lentivirus CRISPR/CAS9 génome entier suivi d'un crible secondaire incluant les 500 meilleurs candidats. Cette approche nous a permis d'identifier une dizaine de cibles potentielles, essentielles à la croissance des cellules PRC2 mutées. Nous avons ensuite répété le crible secondaire *in vitro* et *in* vivo sur un modèle de PDX de MPNST PRC2 muté afin de valider la pertinence des candidats choisis. Nous confirmons maintenant ces gènes un à un, grâce à des lentivirus CRISPR/CAS9 fluorescents *in vitro* et *in vivo* permettant de suivre la contre-sélection des gènes nécessaires. Finalement, nous évaluons des approches pharmacologiques pour les candidats susceptibles d'être ciblés. Ce projet devrait permettre l'identification et la validation pré-clinique de candidats pertinents pour le développement de nouvelles approches thérapeutiques des MPNST.

Abstract MPNST PRC2.pdf

P228 : Cancer de l'ovaire : vers un traitement personnalisé par évaluation des mutations constitutionnelles et tumorales des gènes BRCA1 et BRCA2.

Auteurs :

Ines SCHULTZ (1), Antony LE BECHEC (2), Héléne SCHUSTER (3), Gerlinde AVEROUS (4), Eric GUERIN (5), Jean Pierre FRICKER (6), Danièle MULLER (1)

1. Laboratoire d'oncogénétique, Centre de lutte contre le cancer Paul Strauss, STRASBOURG, France
2. Laboratoire d'oncobiologie, Unité de Bioinformatique, Institut régional du cancer, STRASBOURG, France
3. Unité de génétique oncologique, Centre de lutte contre le cancer Paul Strauss, STRASBOURG, France
4. Département de Pathologie, Hôpitaux universitaires de Strasbourg-Hautepierre, , STRASBOURG, France
5. Laboratoire d'oncobiologie, Unité de biologie moléculaire, Institut régional du cancer, STRASBOURG, France
6. Unité de génétique oncologique , Centre de lutte contre le cancer Paul Strauss, STRASBOURG, France

Mots clefs : Tumeur, cancer de l'ovaire, BRCA1, BRCA2, NGS, mutation

Résumé :

Introduction : Le traitement d'entretien de patientes atteintes d'un cancer de l'ovaire séreux de haut grade, par un anti-PARP tel que l'Olaparib augmente de façon significative la survie sans progression des femmes porteuses d'une mutation dans l'un des gènes de prédisposition BRCA1 ou BRCA2. Déterminer le statut BRCA tumoral de patientes avec cancer de l'ovaire est une activité introduite dans la routine des laboratoires de diagnostic de la prédisposition au cancer du sein et/ou des ovaires dans une perspective de traitements personnalisés. *Méthodes* : L'analyse des gènes BRCA1/2 est réalisée, sur les tumeurs de l'ovaire de type séreux de haut grade ayant montré une sensibilité à la chimiothérapie par sels de platine, et en rechute, par séquençage NGS sur séquenceur MiSeq (Illumina) de librairies préparées à l'aide du kit BRCA MASTR plus DX (Multiplicom). La méthode a été validée sur 31 tumeurs dont le statut BRCA au niveau constitutionnel est connu et a consisté à évaluer l'extraction et la qualification de l'ADN, et le seuil de sensibilité. Trois partenaires sont impliqués : l'anatomo-pathologiste qualifiant le tissu tumoral et 2 laboratoires de biologie moléculaire pour respectivement, l'extraction de l'ADN et la préparation de librairies de type amplicons suivi du séquençage en paired-end de 200pb. L'analyse des données est réalisée par un pipeline bioinformatique « in house ». Dans le flux de la routine, 67 tumeurs de patientes adressées par les oncologues ou les oncogénéticiens ont été analysées. Dans 86% des cas, le tissu normal adjacent a été analysé en parallèle. *Résultats* : 4,5% des tumeurs et 14% des tissus normaux ne sont pas exploitables. Une comparaison de 2 types de qualification de l'ADN sera présentée. Le séquençage d'un pool de 12 librairies génère 0,6Gb de données de bonne qualité. Les séquences codantes des 2 gènes sont couvertes avec en moyenne 95.5% des bases ayant un score de qualité supérieur à Q30, et 95% des reads alignés. La profondeur de lecture moyenne est de l'ordre de 1500x ; s'étendant selon l'amplicon entre 300x et 5000x. Parmi les 31 tumeurs analysées dans le cadre de la validation, toutes les mutations ou polymorphismes détectés antérieurement par séquençage Sanger ont été retrouvés. Une mutation délétère uniquement tumorale a été détectée chez une patiente ne portant pas de mutation constitutionnelle. Parmi les 64 tumeurs analysables, une mutation délétère a été détectée dans 3 cas tant au niveau tumoral qu'au niveau constitutionnel ; trois autres mutations délétères ont été détectées uniquement dans la tumeur. *Conclusion* : Au total, 8% des tumeurs de l'ovaire présentent une mutation délétère dans l'un des gènes BRCA1 ou BRCA2. Près de 50% de ces mutations sont exclusivement tumorales. Le dispositif mis en place intègre un circuit rapide destiné aux patientes atteintes de cancer de l'ovaire pouvant bénéficier d'un traitement d'entretien par inhibiteurs de PARP après une chimiothérapie à base de platine

P229 : Etude d'association génome entier dans la neurofibromatose de type 1 : vers l'identification des modificateurs génétiques de l'expression clinique de la maladie

Auteurs :

Eric Pasmant (1), Audrey Sabbagh (2), Béatrice Parfait (1), Anne Boland-Auge (3), Delphine Bacq-Daian (3), Ingrid Laurendeau (1), Salah Ferkal (4), Laurence Allanore (5), Jean-François Deleuze (3), Michel Vidaud (1), Dominique Vidaud (1), Pierre Wolkenstein (6)

1. Service de Génétique et Biologie Moléculaire, Hôpital Cochin, Paris, France
2. UMR 216 IRD MERIT, Paris Descartes University, Paris, France
3. Centre National de Recherche en Génomique Humaine, CEA, Evry, France
4. Service de Dermatologie & CIC1430, Hôpital Henri-Mondor, AP-HP, Créteil, France
5. Service de Dermatologie, Hôpital Henri-Mondor, AP-HP, Créteil, France
6. Service de Dermatologie & UPEC, EA7379 & Réseau NF-France., Hôpital Henri-Mondor, AP-HP, Créteil, France

Mots clefs : NF1 ; GWAS ; ANRIL

Résumé :

La neurofibromatose de type 1 (NF1) soit une maladie mendélienne à pénétrance complète. Son expression est extrêmement variable y compris au sein d'une même famille, allant de formes mineures à des phénotypes sévères. Le rôle mineur du gène *NF1* lui-même a été confirmé par l'absence de corrélation génotype-phénotype, en dehors des délétions récurrentes de l'ensemble du locus, associées à un phénotype plus sévère. La preuve de l'implication de modificateurs génétiques dans la variabilité d'expression de la NF1 a été apportée par les modèles animaux et les corrélations entre apparentés. Nous présentons ici les résultats de la première étude d'association génome entier (GWAS) réalisée sur les phénotypes cliniques de la NF1. Une cohorte française constituée de 2002 à 2013 a inclus plus de 1500 patients atteints de NF1 selon les critères diagnostiques du NIH et a été génotypée avec la puce Illumina *OmniExpressExome* qui inclut ~700 000 tag SNPs capturant une grande portion de la variation commune du génome humain ainsi que > 260 000 variants exoniques fonctionnels. Après contrôle qualité des données génétiques et phénotypiques, un total de 1355 patients ont été inclus dans la GWAS. Les tests d'association avec 14 traits cliniques de la NF1 ont été réalisés avec un modèle à effets mixtes, en considérant l'âge, le sexe et la nature héritée ou *de novo* de la mutation *NF1* comme effets fixes et en intégrant la matrice génomique d'apparentement pour corriger les biais dus à la présence d'une structure de population. Les résultats de nos analyses ont permis (1) de démontrer la forte héritabilité de la plupart des traits cliniques étudiés (allant de 0,24 pour les gliomes des voies optiques à 0,63 pour les nodules de Lisch), (2) de confirmer l'implication du grand ARN non codant *ANRIL* dans l'apparition des neurofibromes plexiformes et (3) d'identifier de nouveaux loci significativement associés à la variabilité d'expression de la maladie. Les résultats de cette étude contribuent à une meilleure compréhension de la base génétique de la variabilité d'expression de la NF1 et de ses mécanismes physiopathologiques sous-jacents. Elle doit être complétée par l'identification précise des nouveaux gènes impliqués et leurs études fonctionnelles dans des modèles cellulaires *ad hoc* par des approches de *genome editing*.

Abstract GWAS NF1.pdf

P230 : Impact de la surveillance mammaire annuelle par IRM, mammographie et échographie des femmes porteuses d'un variant délétère du gène BRCA1/BRCA2, sur les caractéristiques tumorales et les traitements

Auteurs :

Solveig MENU HESPEL (1, 2), Claire SAULE (1), Emmanuelle MOURET-FOURME (1, 3), Matthieu CARTON (3), Dominique STOPPA-LYONNET (1, 4)

1. Service de Génétique clinique, Institut Curie, Paris, France
2. Clinique de Génétique Guy Fontaine, Centre Hospitalier Régional Universitaire, Lille, France
3. Unité de Biométrie, Institut Curie, Paris, France
4. , Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, Paris , France

Mots clefs : prédisposition génétique BRCA1/2, IRM, surveillance, caractéristiques tumorales

Résumé :

Introduction : Les femmes porteuses d'un variant délétère du gène *BRCA1 ou BRCA2* présentent un risque très élevé de développer un cancer du sein au cours de la vie, ce qui a conduit à l'élaboration de recommandations de surveillances mammaires annuelles associant examen clinique, IRM mammaire, mammographie et échographie mammaire.
Objectif : Evaluer l'impact du suivi spécifique des femmes à risque (suivi FAR), sur les caractéristiques histo-pronostiques du cancer identifié, sur la prise en charge thérapeutique des femmes *BRCA1/2* et l'apport des différents examens radiologiques dans ce suivi.
Patientes et méthodes : Nous avons analysé 927 cancers du sein survenus chez 812 femmes porteuses d'un variant délétère de *BRCA1/BRCA2* suivies à l'Institut Curie. 758 de ces cancers ont été identifiés hors suivi FAR (statut génétique non connu au moment du diagnostic initial) et 169 de ces cancers ont été identifiés dans le cadre du suivi FAR conformément aux recommandations INCa de 2009. En fonction du type de suivi (FAR ou suivi classique), les caractéristiques des cancers du sein ont été comparées selon les critères suivants : TNM, type histologique, phénotype moléculaire, grade, état ganglionnaire axillaire, chirurgie mammaire et axillaire, traitements systémiques, radiothérapie et sensibilité des examens radiologiques.
Résultats: Les formes infra-cliniques sont significativement plus fréquentes dans le cadre du suivi FAR (61.8% vs 18.8% sans suivi spécifique, $p < 0.001$) et sans extension ganglionnaire (85,5% vs 70,1%, p=0.002). Concernant l'histologie, on observe significativement plus de carcinomes canalaires in situ (CCIS) au cours du suivi FAR (17% pour les femmes *BRCA1+* et 33,8% pour les femmes *BRCA2+*) que dans le groupe sans suivi spécifique (3,1% versus 20,1% dans le cadre de *BRCA1+* et *BRCA2+* respectivement) ($p < 0.001$). Parmi les 169 cancers diagnostiqués au cours du suivi FAR, 84,3% étaient visualisables à l'IRM, 60,2% à la mammographie et 76% à l'échographie mammaire. Concernant la prise en charge thérapeutique, on observe un recours plus important à la mastectomie totale (66,3% vs 37,6%, $p < 0,001$) et un geste axillaire moins invasif : plus de ganglion sentinelle (GS) au dépend du curage axillaire (CA) (26,8% vs 66,4%, $p < 0,001$) dans le groupe FAR par rapport au groupe non FAR. Pour les traitements adjuvants, la chimiothérapie néo-adjuvante (9% vs 25%, $p < 0,001$), ainsi que la chimiothérapie adjuvante (50,3% vs 62,9%, p=0,03) et la radiothérapie (65,2% vs 89%, $p < 0,001$) sont moins souvent retenues pour prendre en charge les cancers du sein du groupe FAR que ceux du groupe non FAR.
Conclusion : Le suivi FAR rend possible le diagnostic de tumeurs mammaires de plus petite taille avec moins d'envahissement ganglionnaire, permettant une réduction des traitements associés (chimiothérapie néoadjuvante ou adjuvante, GS vs CA) et ainsi limiter les morbidités associées. L'impact sur le pronostic à long terme semble probable mais reste à démontrer.

Abstract #13170.docx

P231 : Formule chromosomique unique: présence de 2 dérivés d'une translocation réciproque équilibrée en mosaique

Auteurs :

marine tessarech (1, 2), agnes Guichet (3), estelle colin (3), magali Gorce (3), dominique bonneau (3), magalie barth (4)

1. Service de genetique, CHU Angers, angers, France
2. service de genetique, CHU angers, angers, France
3. service de genetique, hopital CHU, angers, France
4. service de genetique, CHU Angers, angers, France

Mots clefs : mosaique derives translocation reciproque

Résumé :

Une mosaique est définie par la présence de 2 lignées cellulaires différentes provenant d'un même zygote chez un individu. Les mosaïques sont bien connues pour les aneuploidies ou pour des anomalies de structure comme par exemple un marqueur ou un anneau mais très rarement pour une translocation réciproque déséquilibrée. Dans ce dernier cas, la mosaïque implique une lignée cellulaire normale et une seconde lignées cellulaire avec un dérivé de la translocation réciproque équilibrée (Pater et al 2003,Gijsbers 2011Robberecht 2012).
Un enfant nous est adressé à l'âge de 1 an en consultation de génétique pour une déficience intellectuelle isolée. Il s'agit de la troisième enfant né de d'un couple non apparenté et sans antécédents familiaux particuliers. La SNP array réalisée en premier intention met en évidence une duplication terminale en 5p13 d'une taille de 34Mb et une délétion terminale en mosaïque de l'ordre de 90% de la région 8p23.2 : arr[hg19] 5p15.33p13.2(0-34,455,165)x3,8p23.3p23.2(0-2,403,261)1~2
Le caryotype réalisé pour confirmer ces résultats montre une mosaïque avec 2 populations cellulaires à 46 chromosomes :
-une majoritaire avec un dérivé d'un chromosome 8
-et une très faible seconde population cellulaire avec seulement une mitose parmi 25 avec un dérivé d'un chromosome 5
L'hybridation in situ sur mitoses confirme la mosaïque de ces 2 populations cellulaires avec 5% de der(5) .
Ainsi le caryotype de notre patient est :46,XX,der(5)t(5;8)(p13.2;p23.2)[1],der(8) t(5;8)(p13.2;p23.2)[25]dn.
Les caryotypes des parents sont normaux .
Nous discutons les mécanismes chromosomiques pouvant expliquer ce caryotype extrêmement rare ainsi qu'une revue de la littérature. Notre observation semble unique par la présence de 2 dérivés issus d'une translocation réciproque équilibrée initiale e l'absence d'une lignée cellulaire normale.

P232 : Cooccurrence d'un Chromosome Marqueur Surnuméraire (CMS) et d'une délétion 4p chez un homme infertile

Auteurs :

Wafa Slimani (1), Afef Jelloul (1), Mohammed Bibi (2), Thomas Liehr (3), 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 gynécologie obstétrique, Hôpital universitaire Farhat Hached , Sousse, Tunisie
3. Génétique Humaine, Institut de génétique Humaine, Iéna, Allemagne

Mots clefs : Chromosome Marqueur Surnuméraire, délétion 4p14, infertilité

Résumé :

Les CMS sont trouvés dans 0.044% des naissances vivantes et sont plus fréquents chez les sujets hypofertiles avec une fréquence de 0.125%. La présence des CMS est le plus souvent rapportée chez les hommes infertiles avec oligospermie ou azoospermie. Dans ce cadre nous présentons une analyse cytogénétique d'un CMS détecté en postnatal chez un homme âgé de 42 ans souffrant d'une infertilité.
Le caryotype conventionnel en bande R fait systématiquement dans notre laboratoire a permis de mettre en évidence la présence d'un petit chromosome surnuméraire en mosaïque dans 30% des mitoses analysées. L'analyse par hybridation *In Situ* Fluorescente (FISH) avec les sondes spécifiques des chromosomes sexuels ainsi que les chromosomes 15, 22 et 18 est revenue sans anomalies. Cent-FISH n'a pas pu également l'identifier. Le recours à la microdissection chromosomique a permis de caractériser cette anomalie comme un anneau dérivé du 4 accompagné d'une délétion 4pter contenant la région critique de WHS. La formule chromosomique est alors **47,XY,del(4)(p14p16.1),+r(4)(p14p16.1)[3]/46,XY,del(4)(p14p16.1)[14]**
La délétion 4p14 est responsable du syndrome de Wolf-Hirschhorn qui se caractérise par une dysmorphie faciale typique et une déficience intellectuelle sévère accompagnées d'un retard de croissance. Malgré la présence de la délétion dans 100% des mitoses analysées, notre patient n'a présenté aucun de ces signes en consultation et il avait uniquement une oligoasthénozoospermie. Cependant, dans presque 18% des mitoses la délétion est compensée par la présence d'un anneau composé de la même région perdue allant de 4p14 à 4p16.
Chez les patients ayant une hypofertilité, la présence du MCS, même entièrement composé par l'hétérochromatine, perturberait le processus de la gamétogenèse lors de la méiose I essentiellement au cours de la spermatogénèse en augmentant le taux de non-disjonctions méiotiques qui pourrait résulter en un effet inter-chromosomique dans certains cas.

2017 del4p.docx

P233 : Evaluation de la plateforme IdyllaTM de PCR multiplex en temps réel pour la détection rapide des principales mutations somatiques: intérêt pour les urgences théranostiques et l'identitovigilance.

Auteurs :

Jérôme Alexandre Denis (1), Erell Guillerm (2), Elodie Paris (3), Gaëlle Legrand (4), Salim Bakas (4), Armelle Bardier-Dupas (5), Isabelle Brocheriou (5), Frédéric Davi (6), Jean-marc Lacorte (7), Florence Coulet (2)

1. Service de Biochimie Endocinienne et Oncologique, Hôpitaux Universitaires La Pitié Salpêtrière-Charles Foix, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Université Pierre et Marie Curie, Paris, France
2. Laboratoire d'Oncogénétique et Angiogénétique Moléculaire-Département de Génétique, Hôpitaux Universitaires La Pitié Salpêtrière-Charles Foix, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Université Pierre et Marie Curie, PARIS, France
3. Laboratoire d'Oncogénétique et Angiogénétique Moléculaire- Département de Génétique, Hôpitaux Universitaires La Pitié Salpêtrière-Charles Foix, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Université Pierre et Marie Curie, Paris, France
4. 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
5. Service d'Anatomie et Cytologie pathologique, Hôpitaux Universitaires La Pitié Salpêtrière-Charles Foix, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Université Pierre et Marie Curie, Paris, France
6. Service d'Hématologie Biologique, Hôpitaux Universitaires La Pitié Salpêtrière-Charles Foix, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Université Pierre et Marie Curie, Paris, France
7. Service de Biochimie Endocinienne et Oncologique, Hôpitaux Universitaires La Pitié Salpêtrière-Charles Foix, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Université Pierre et Marie Curie, PARIS, France

Mots clefs : Théranostique, PCR allèle-spécifique

Résumé :

L'identification d'altérations génétiques au sein des tumeurs solides a de multiples applications théranostiques, diagnostiques ou pronostiques. Actuellement, les résultats sont demandés en plus grand nombre et dans des délais de plus en plus courts. Pour faire face à cette demande, les laboratoires doivent s'adapter et mettre en place de nouvelles solutions technologiques. Dans cette étude, notre laboratoire a évalué la plateforme Idylla™ (Biocartis), une technologie utilisant la PCR multiplex en temps réel (CEIVD) permettant un délai de rendu de résultat de moins de 3h. Dans une cartouche unique, l'ADN est extrait à partir d'une coupe de tissu FFPE de 10 µm ; puis, par canaux microfluidiques, il est mis en contact avec les réactifs permettant une PCR allèle-spécifique dans 5 chambres indépendantes avec détection en temps réel des valeurs de fluorescence correspondant à 6 cibles différentes (au total 30 amplifications/échantillon incluant le contrôle interne d'amplification). Nous avons évalué 4 kits permettant respectivement l'identification de 6 mutations sur le codon 600 du gène *BRAF*, 16 mutations sur les codons 12,13,59,61,117 et 146 du gène *NRAS*, 18 mutations sur les codons 12,13,59,61,117 et 146 du gène *KRAS* et les principales mutations sur les exons 18, 19, 20 et 21 du gène *EGFR*. Notre évaluation a consisté à rechercher avec la plateforme Idylla™, 24 mutations précédemment identifiées par séquençage à haut débit (Oncomine-PGM) avec des fréquences alléliques comprises entre 4% à 73%. Tous les échantillons mutés ont été identifiés par la plateforme Idylla™. Un variant a été incorrectement assigné. Malgré le développement important du séquençage à haut débit et des panels de gènes, la technologie très ciblée de PCR multiplex en temps réel Idylla™ reste compétitive du fait de la fiabilité, de la simplicité de la technique et surtout du délai très court de rendu de résultat. Dans notre laboratoire, nous proposons d'utiliser cette technologie dans trois applications particulières : 1) la recherche de mutation *EGFR* dans un contexte d'urgence (avec poursuite en NGS pour les résultats négatifs) ; 2) la recherche de mutation *BRAF* V600E dans plusieurs cadres : rôle théranostique dans le mélanome, aide au diagnostic des leucémies à tricholeucocytes, valeur pronostique péjorative dans les carcinomes papillaires de la thyroïde, ou conseil génétique des tumeurs avec perte d'expression MLH1 et/ou PMS2 ; 3) la confirmation de mutation *KRAS* pour des patients mutés dans les séries de NGS à des fins d'identitovigilance. En conclusion, cette plateforme pourrait être d'une aide précieuse par sa sensibilité, rapidité et simplicité d'utilisation. Toutefois, elle présente l'inconvénient classique de la PCR en temps réel en ne permettant de détecter qu'un nombre limité de mutations. Le positionnement de cette technologie reste à affiner, avec l'évaluation d'autres applications en développement, en particulier sur l'ADN tumoral circulant.

P234 : Contribution des mutations des gènes SFTPA1 et SFTPA2 aux pneumopathies interstitielles diffuses et cancers pulmonaires

Auteurs :

Nadia Nathan (1), Marie Legendre (2), Caroline Kannengiesser (3), Juliette Albuisson (4), Keren Borensztajn (2), Raphaël Borie (5), Diane Bouvry (6), Bruno Copin (7), Bruno Crestani (5), Jean-Charles Dalphin (8), Florence Dastot le Moal (2), Paul De Vuyst (9), Philippe Duquesnoy (2), Emilie Filhol Blin (1), Afifaa Butt (1), Violaine Giraud (10), Carine Gomez (11), Laurent Gouya (12), Xavier Jeunemaître (4), Valérie Nau (2), Hilario Nunes (6), Clément Picard (13), Grégoire Prévot (14), Martine Reynaud-Gaubert (11), Annick Clement (1), Serge Amselem (2)

1. UMR-S933, Service de pneumologie Pédiatrique et Filière de soins RespiFIL, Inserm et APHP Hôpital Trousseau, Paris, France
2. Département de génétique médicale et UMR-S933, Inserm et APHP Hôpital Trousseau, Paris, France
3. Service de Génétique Moléculaire Hôpital Bichat, Inserm et APHP Hôpital Bichat, Paris, France
4. Service de Génétique Hôpital Européen Georges Pompidou, APHP, Paris, France
5. Service de Pneumologie, Hôpital Bichat, APHP, Paris, France
6. Service de Pneumologie, Hôpital Avicenne, APHP, Bobigny, France
7. Service de Génétique Moléculaire et UMR-S933, Inserm et APHP Hôpital Trousseau, Paris, France
8. Service de Pneumologie, CHU Besançon, Besancon, France
9. Service de Pneumologie, Hôpital Erasme, Bruxelles, Belgique
10. Service de Pneumologie, Hôpital Ambroise Paré, APHP, Boulogne Billancourt, France
11. Service de Pneumologie, CHU Marseille, Marseille, France
12. Inserm U1149; CNRS ERL 8252; Centre de recherche sur l'inflammation, Inserm et CNRS Hôpital Louis Mourier, Colombes, France
13. Service de Pneumologie, Hôpital Foch, Suresnes, France
14. Service de Pneumologie, CHU Toulouse, Toulouse, France

Mots clefs : Surfactant, pneumopathie interstitielle diffuse, cancer pulmonaire, génétique

Résumé :

Introduction
Les pneumopathies interstitielles diffuses (PID) sont un groupe hétérogène de pathologies pulmonaires rares et sévères. Parmi elles, une cause génétique est retrouvée chez environ 2% des formes sporadiques et jusqu'à 20% des formes familiales. Les gènes le plus souvent en cause sont ceux du complexe des télomérases, suivis des gènes du système du surfactant alvéolaire. Les mutations des gènes du surfactant *SFTPA1* et *SFTPA2* qui codent pour les protéines du surfactant (SP)-A (SP-A1 et SP-A2) ont été impliqués dans de rares formes familiales de PID associées à des cancers pulmonaires. Le but de cette étude était d'évaluer la contribution des mutations des gènes *SFTPA1* et *SFTPA2* dans une large cohorte de patients adultes présentant une PID.

Matériel et méthodes
Les patients ont été recrutés et inclus de façon prospective au sein de la filière de soins pour les maladies respiratoires rares RespiFIL. Les patients présentant une mutation dans un gène du complexe des télomérases et/ou une mutation dans l'un des autres gènes du système du surfactant (*SFTPB, SFTPC, ABCA3, NKX2-1*) ont été exclus. Les exons et les régions introniques flanquantes de *SFTPA1* et *SFTPA2* ont été analysés. Les variations retrouvées dans ces gènes ont été étudiées in silico et des tests fonctionnels incluant la production et la sécrétion des protéines SP-A dans des modèles cellulaires adaptés sont en cours.

Résultats
Au total, 175 patients indépendants ont été inclus. Onze variations hétérozygotes, ont été identifiées : 2 dans *SFTPA1* et 9 dans *SFTPA2*. Les données *in silico* sont en faveur de leur caractère pathogène. Dix des 11 variations impliquent des acides aminés conservés localisés dans le domaine de reconnaissance des carbohydrates de SP-A, domaine fonctionnel très conservé au cours de l'évolution. Ces mutations ont été identifiées chez 13 (7,4%) patients, 9 hommes et 4 femmes. Ces patients avaient un âge moyen au début des symptômes de 51 ans [29-69]. Pour 77% des patients, la PID était familiale, et un antécédent personnel ou familial de cancer pulmonaire était présent chez 54% des patients. Les patients présentant une mutation d'un de ces gènes présentaient un risque majoré de cancer pulmonaire : OR=8,34 [2,54-27,32], p=0,0005. Dans cette population d'étude, la probabilité de retrouver une mutation de *SFTPA1* ou *SFTPA2* chez un patient présentant une PID associée à un antécédent personnel ou familial de cancer pulmonaire, et/ou une forme familiale de PID était significativement plus importante.

Discussion et conclusion
Une expression altérée de SP-A pourrait contribuer à la physiopathologie des PID. Les données rapportées dans cette étude suggèrent que les patients présentant une forme familiale de PID et/ou une association à un cancer pulmonaire ont un risque

majoré d'être porteur de mutations des gènes *SFTPA1* ou *SFTPA2*. Ces anomalies génétiques soulèvent des questions délicates quant au conseil génétique et au suivi à long terme de ces patients.

P235 : Etude des ARNm des gènes MLH1, MSH2 et MSH6 dans le syndrome de Lynch

Auteurs :

Lisa Golmard (1), Yoël Dagan (1), Khadija Abidallah (1), Virginie Moncoutier (1), Chrystelle Colas (2, 3), Marion Dhooge (4), Florence Coulet (2), Béatrice Parfait (5, 6), Mathilde Warcoin (2), Hélène Delhomelle (7), Philippe Lafitte (1), Antoine de Pauw (1), Dominique Stoppa-Lyonnet (1, 8), Claude Houdayer (1, 8), Bruno Buecher (1)

1. Service de Génétique, Institut Curie, Paris, France
2. UF d'Oncogénétique et Angiogénétique moléculaire, Hôpital Pitié-Salpêtrière, APHP, Paris, France
3. Consultation d'Oncogénétique et INSERM, UMRS 938, Hôpital Saint Antoine, APHP et Centre de Recherche Saint Antoine, Université Pierre et Marie Curie, Paris, France
4. Service de Gastro-entérologie et Oncologie digestive, Hôpital Cochin, APHP, Paris, France
5. Centre de Ressources Biologiques, Hôpital Cochin, APHP, Paris, France
6. Service de Génétique et Biologie moléculaires, Hôpital Cochin, APHP, Paris, France
7. Consultation d'Oncogénétique, Hôpital Saint Antoine, APHP, Paris, France
8. INSERM U830 et Université Paris Descartes, Institut Curie et Université Sorbonne Paris Cité, Paris, France

Mots clefs : ARN messager, MSH2, MMR, Lynch, épissage

Résumé :

Introduction. Le syndrome de Lynch, de transmission autosomique dominante, se caractérise par une prédisposition à différents cancers : colôn, rectum, endomètre, intestin grêle, voies urinaires, ovaire, voies biliaires et estomac. Il est causé par la présence d'un variant délétère sur un des quatre gènes impliqués dans le système de réparation des mésappariements de l'ADN (MMR, *mismatch repair*) : *MLH1*, *MSH2*, *MSH6* ou *PMS2*. Le diagnostic génétique du syndrome de Lynch consiste en l'analyse de la séquence codante et des jonctions exon-intron des gènes *MMR*, permettant l'identification de mutations ponctuelles ou réarrangements de grande taille (RGT) dans ces régions ; la recherche des RGT comprend également la délétion du gène *EPCAM* situé en amont du gène *MSH2* et réprimant son expression. Les éventuels variants présents dans les régions régulatrices ou mutations introniques profondes ne sont donc pas détectés. Dans cette étude, les ARNm des gènes *MLH1*, *MSH2* et *MSH6* ont été analysés chez des patients présentant un syndrome de Lynch sans variant délétère identifié.
Méthodes. Cette étude a porté sur 28 patients avec forte suspicion clinico-biologique de syndrome de Lynch en raison de la présence de ces trois critères : diagnostic de cancer appartenant au spectre tumoral de ce syndrome, phénotype tumoral d'instabilité des microsatellites et perte d'expression d'au moins une des quatre protéines MMR. L'ARN total a été extrait à partir de sang prélevé sur tube PAXgene et/ou de lignée lymphoblastoïde selon les patients. Les analyses ont été réalisées par RT-PCR de fragments chevauchants et séquençage Sanger sur les ARNm des gènes *MLH1*, *MSH2* et *MSH6* pour 13, 14 et 1 cas, respectivement.
Résultats. Deux anomalies ont été détectées sur le gène *MSH2* : un saut hors phase de l'exon 11 et une perte de la fin de l'exon 3 et du début de l'exon 4. Aucune anomalie n'a été détectée sur les gènes *MLH1* et *MSH6*. Le saut de l'exon 11 du gène *MSH2* est présent chez un patient atteint d'un cancer du côlon à 28 ans avec des antécédents de polypes coliques chez sa mère à partir de 40 ans et cancer du côlon chez sa grand-mère maternelle à 50 ans. La perte partielle des exons 3 et 4 du gène *MSH2* est présente chez un patient atteint d'un cancer du côlon à 46 ans avec antécédent de cancer du côlon à moins de 50 ans chez sa grand-mère maternelle.
Conclusion. Cette étude des ARNm de gènes *MMR* a permis d'identifier des anomalies responsables du syndrome de Lynch dans deux cas non expliqués lors de l'analyse génomique. Des analyses supplémentaires sont nécessaires, en particulier le séquençage des introns, afin d'identifier le variant génétique causal au niveau de l'ADN, permettant de réaliser des tests génétiques ciblés dans les familles et d'organiser la surveillance des apparentés porteurs. Cette meilleure sensibilité suggère l'implémentation d'une analyse combinée ADN-ARN dans le cadre diagnostique pour les cas fortement évocateurs.

P236 : Analyses chromosomiques des couples ayant subi des avortements spontanés récurrents

Auteurs :

Zouhair ELKARHAT (1, 2), Latifa ZAROUF (3), Lunda RAZOKI (3), Jamila ABOULFARAJ (3), Abderraouf HILALI (2), Boubker NASSER (2), Sanaa NASSEREDDINE (3), Abdelhamid BARAKAT (1), Hassan ROUBA (1)

1. laboratoire de Génomique et Génétique Humaine, Institut Pasteur du Maroc, Casablanca, Maroc
2. Laboratoire de Biochimie et Neurosciences, Faculté des Sciences et Techniques de Settat, Settat, Maroc
3. laboratoire de cytogénétique, Institut Pasteur du Maroc, Casablanca, Maroc

Mots clefs : Fausse couche, anomalies chromosomiques, inversion, translocation réciproque, translocation Robertsoniennes, insertion, délétion, les variants polymorphiques

Résumé :

Les aberrations chromosomiques constitutionnelles contribuent à l'infertilité et aux fausses couches répétées menant à l'échec de la reproduction chez les couples. Ces aberrations ne montrent pas de manifestations cliniques évidentes et ne sont pas détectées à travers plusieurs générations. Cependant, l'infertilité ou la perte spontanée récurrente de grossesse, et / ou les aberrations génotypiques / phénotypiques peuvent se manifester dans la descendance pendant la gamétogenèse.
Dans cette étude rétrospective, on a évalué les résultats des caryotypes de 628 couples ayant des antécédents d'avortement spontané récurrent et qui ont été recruté par le laboratoire de cytogénétique de l'institut pasteur du Maroc entre 1996 et 2016. Les lymphocytes du sang périphérique ont été cultivés pour l'étude des chromosomes en utilisant la méthode standard. Des aberrations chromosomiques ont été détectées chez 70 couples (11.15 % de tous les couples).
Les anomalies chromosomiques les plus courantes sont les anomalies chromosomiques structurelles, qui ont été trouvées chez 57 cas (9,08%) (20 hommes et 37 femmes). En effet, 27 cas (4,30%) ont une inversion (9 hommes et 18 femmes), 21 cas (3,34%) ont une translocation réciproque (7 hommes et 14 femmes), 5 cas (0,80%) ont une translocation Robertsoniennes (3 hommes et 2 femmes) , 2 cas (0,32%) ont une insertion (2 femmes) et 2 cas (0,32%) ont une délétion (1 homme et 1 femme). Les caryotypes en mosaïque ont été observés chez quatre femmes (0,64%), les variants polymorphiques ont été identifiés chez 8 cas (1,28%) (3 hommes et 5 femmes) et une aneuploïdie numérique a été observés chez un homme (0,16%).
Les résultats de l'étude ont montré que les aberrations structurelles, en particulier les inversions, étaient le type d'aberration le plus fréquent observé chez les couples ayant subi un avortement spontané récurrent.

Fichier soumission Fausse couche.docx

P237 : Profil cytogénétique des patients marocains atteints d'hypospadias

Auteurs :

Zouhair ELKARHAT (1, 2), Latifa ZAROUF (3), Lunda RAZOKI (3), Jamila ABOULFARAJ (3), Abderraouf HILALI (2), Boubker NASSER (2), Sanaa NASSEREDDINE (3), Abdelhamid BARAKAT (1), Hassan ROUBA (1)

1. laboratoire de Génomique et Génétique Humaine, Institut Pasteur du Maroc, Casablanca, Maroc
2. Laboratoire de Biochimie et Neurosciences, Faculté des Sciences et Techniques de Settat, Settat, Maroc
3. laboratoire de cytogénétique, Institut Pasteur du Maroc, Casablanca, Maroc

Mots clefs : Hypospadias, anomalie chromosomique, inversion du sexe

Résumé :

L'hypospadias est une affection des voies urogénitales la plus fréquente du pénis. Son incidence est d'environ 3/100 enfants de sexe masculin. C'est une anomalie de la fermeture de la gouttière urogénitale à la face inférieure du pénis au lieu de son extrémité. Il apparaît sous forme des abouchements anormaux de l'urètre sur la face ventrale de la verge ou au niveau du scrotum, voire du périnée. Son origine est souvent multifactorielle (génétique, endocrinienne et environnementale). L'objectif de notre étude est de déterminer la fréquence des anomalies chromosomiques identifiés chez 148 patients marocains atteints d'un hypospadias et qui ont été recruté par le laboratoire de cytogénétique de l'institut pasteur du Maroc entre 1996 et 2016. L'analyse cytogénétique a révélé que 125 patients (84,46%) ont un caryotype 46,XY, 14 patients (9,46%) one une anomalie chromosomique et 9 patients (6,08 %) ont une inversion de sexe 46,XX. Les anomalies chromosomiques les plus courantes sont les anomalies chromosomiques de nombre, qui ont été trouvées chez 6 patients (4.05%) suivie par la forme mosaïque qui a été identifié chez 5 patients (3.38%) et les anomalies chromosomiques structurelle qui a été observé chez 3 patients (2.03%). Nos résultats montrent que les anomalies chromosomiques de nombre sont les anomalies chromosomiques le plus fréquentes identifiés chez les patients marocains atteints d'hypospadias.

Fichier soumission Hypospadias.docx

P238 : Types et fréquences des anomalies chromosomiques identifiés chez des filles marocaines atteintes d'une aménorrhée primaire

Auteurs :

Zouhair ELKARHAT (1, 2), Latifa ZAROUF (3), Lunda RAZOKI (3), Jamila ABOULFARAJ (3), Abderraouf HILALI (2), Boubker NASSER (2), Sanaa NASSEREDDINE (3), Abdelhamid BARAKAT (1), Hassan ROUBA (1)

1. laboratoire de Génomique et Génétique Humaine, Institut Pasteur du Maroc, Casablanca, Maroc
2. Laboratoire de Biochimie et Neurosciences, Faculté des Sciences et Techniques de Settat, Settat, Maroc
3. laboratoire de cytogénétique, Institut Pasteur du Maroc, Casablanca, Maroc

Mots clefs : aménorrhée primaire, Inversion du sexe, L'analyse cytogénétique, les anomalies chromosomiques de nombre, les anomalies chromosomiques structurelle, les anomalies chromosomiques en mosaïque

Résumé :

L'aménorrhée caractérise l'absence de règles chez la femme en âge de procréer. L'aménorrhée se rencontre en situation normale pendant la grossesse mais peut aussi se produire de manière pathologique au cours de la période de fécondité, signe le plus souvent d'une maladie sous-jacente. Il existe deux types d'aménorrhée, l'aménorrhée primaire, c'est la non apparition des premières règles avant l'âge de seize ans et l'aménorrhée secondaire ou absence de règles de plus de trois mois chez une femme déjà réglée. L'objectif de notre étude est de déterminer les types et les fréquences des anomalies chromosomiques identifiés chez 161 filles marocaines atteintes d'une Aménorrhée primaire et qui ont été recrutée par le laboratoire de cytogénétique de l'institut pasteur du Maroc entre 1996 et 2016. L'analyse cytogénétique a révélé que 133 filles (82,61%) ont un caryotype 46,XX, 19 filles (11,80 %) one une anomalie chromosomique et 9 filles (5,59 %) ont une inversion de sexe 46,XY. Les anomalies chromosomiques les plus courantes sont les anomalies en mosaïque, elles ont été identifiées chez 8 filles (4,97 %), suivie par les anomalies chromosomiques de nombre trouvées chez 6 filles (3,73 %) et les anomalies chromosomiques structurelle qui a été observé chez 5 filles (3,11%). Nos résultats montrent que les anomalies chromosomiques en mosaïque sont les anomalies chromosomiques le plus fréquentes identifiés chez les filles marocaines atteints d'une aménorrhée primaire.

Fichier soumission aménorrhée.docx

P239 : Inversion ou insertion? De l'importance de la mécanique chromosomique pour le conseil génétique

Auteurs :

khaoula khachnaoui (1), Lilia Kraoua (1), Jérémie Mortreux (2), Chantal Missirian (2), Ridha M'rad (1)

1. Service des maladies congénitales et héréditaires , CHU Charles Nicolle, Tunis, Tunisie
2. Département de Génétique Médicale, AP-HM, CHU Timone Enfants, Marseille, France

Mots clefs : insertion intrachromosomique, inversion paracentrique, mécanique chromosomique, conseil génétique

Résumé :

Les insertions intrachromosomiques sont des remaniements chromosomiques rares, difficilement identifiables par les techniques de cytogénétique conventionnelle, pouvant être interprétées à tort comme des inversions paracentriques.
Nous rapportons l'observation d'une patiente âgée de 5 ans, issue d'une grossesse obtenue par ICSI de parents non apparentés, présentant une déficience intellectuelle syndromique (DIS) associant une hypotonie néonatale, un retard psychomoteur, un retard de langage, un retard de croissance à -2DS et une dysmorphie faciale sans malformation cardiaque ou digestive associées.
L'interprétation initiale du caryotype du cas index concluait à la présence d'un double remaniement chromosomique apparemment équilibré hérité du père associant une inversion péricentrique et une inversion paracentrique du chromosome 11 (46,XX,inv(11)(p15q12)pat,inv(11)(q14q24.1)pat).
En raison du contexte clinique, une Analyse Chromosomique sur Puce à ADN (ACPA) a été réalisée pour vérifier le caractère équilibré de ces deux remaniements. Une variation de nombre de copies à type de duplication interstitielle en 11q22.3-q24.1 d'environ 19.8 Mb du bras long d'un chromosome 11 a été mise en évidence et considérée comme pathogène rendant compte du tableau clinique. Au vu de l'association inhabituelle d'une inversion paracentrique et d'une duplication, le caryotype a été réinterprété et des études complémentaires par hybridation fluorescente *in situ* (FISH) ont été réalisées afin de comprendre le mécanisme sous-jacent. Nous avons finalement conclu que la patiente est porteuse d'une inversion péricentrique apparemment équilibrée du chromosome 11, associée à une insertion intrachromosomique directe sur le même chromosome :ins(11)(q12q22.3q24.1), toutes deux héritées du père. Ainsi, la duplication interstitielle identifiée à l'ACPA correspond au segment inséré 11q22.3-q24.1, déséquilibre secondaire à un évènement de recombinaison méiotique survenu dans la boucle du segment non inséré.
Cette observation illustre l'importance de la compréhension de la mécanique chromosomique pour le conseil génétique. En effet, le risque de déséquilibre dans les inversions paracentriques est relativement faible, alors qu'il varie de 15% à 50% dans le cas des insertions intrachromosomiques.

P240 : Démarche d'accréditation du centre de Biologie Médiale de l'Institut Pasteur du Maroc selon l'ISO 15189

Auteurs :

Zouhair ELKARHAT (1, 2), Kaouter AIT HAMID (3), Latifa ZAROUF (3), Lunda RAZOKI (3), Jamila ABOULFARAJ (3), Sanaa NASSEREDDINE (3)

1. laboratoire de Génomique et Génétique Humaine, Institut Pasteur du Maroc, Casablanca, Maroc
2. Laboratoire de Biochimie et Neurosciences, Faculté des Sciences et Techniques de Settat, Settat, Maroc
3. laboratoire de cytogénétique, Institut Pasteur du Maroc, Casablanca, Maroc

Mots clefs : Démarche d'accréditation, laboratoires de Biologie Médicales, la phase pré-analytique, ISO 15189

Résumé :

La biologie médicale est une activité médicale qui se déroule en 3 phases : pré-analytique, analytique et post-analytique. Elle a pour objectif d'analyser et d'interpréter les résultats d'examens effectués sur des matières biologiques produits par l'organisme en vue de connaître l'origine physiopathologique d'une maladie. En France, une ordonnance d'application est parue le 13 janvier 2010 pour obliger les Laboratoires d'analyses médicales à être accrédités en ISO 15189 sur au moins 50 % des examens avant 2016 (80 % en 2018 et 100% en 2020). Au Maroc l'accréditation des laboratoires de Biologie Médicales n'est pas encore rendue obligatoire et malgré ça la direction de l'institut pasteur du Maroc s'est engagé dans cette démarche d'accréditation afin de garantir à ses patients et aux cliniciens la fiabilité de ses examens réalisés et la qualité de sa prestation médicale offerte. Ce travail présente la méthodologie suivie par le centre de biologie médicale afin de maitriser la phase pré-analytique et répondre aux exigences de la norme iso 15189.

Fichier soumission accréditataion.docx

P241 : Microdélétions de TMEM164 et AMMECR1 en Xq22.3q23 : rapport de deux cas confirmant un phénotype reconnaissable

Auteurs :

Brice POREAU (1), Francis RAMOND (2), Charles COUTTON (3), Radu HARBUZ (3), Véronique SATRE (3), Claire BARRO (3), Claire VETTIER (3), Véronique ADOUARD (2), Julien THEVENON (3), Pierre-Simon JOUK (3), Renaud TOURAINE (2), Klaus DIETERICH (4)

1. Génétique Médicale, CHU Grenoble Alpes, grenoble, France
2. Génétique Clinique, chromosomique et moléculaire, CHU Hôpital Nord, Saint Etienne, Saint Etienne, France
3. Génétique Médicale, CHU Grenoble Alpes, Grenoble, France
4. Univ. Grenoble Alpes, Grenoble Institut des Neurosciences, GIN, F--38000 Grenoble, France, CHU de Grenoble, F--38000 Grenoble, France, grenoble, France

Mots clefs : délétions Xq22.3q23, AMME syndrome, array-CGH

Résumé :

The AMME syndrome defined as the combination of Alport syndrome, intellectual disability, midface hypoplasia, and elliptocytosis (AMME, OMIM 300194) is known to be a contiguous gene syndrome associated with microdeletions in the region Xq22.3q23 [Robson et al., 1994; Jonsson et al., 1998; Bhat et al., 2006; Rodriguez et al., 2010; Gazou et al., 2013]. These microdeletions involve up to eight OMIM genes and in particular the disease associated genes *GUCY2F, KCNE1L, COL4A5*, *ACSL4* and *AMMECR1*. *GUCY2F* and *KCNE1L* are associated with X-linked retinitis pigmentosa (Yang et al, 1996) and Jervell and Lange-Nielsen syndrome 2 (OMIM 612347) and Long QT syndrome 5 (OMIM 613695) respectively. However, no retinal or cardiac features have been reported so far with Xq22.3q23 deletions. *COL4A5* point mutations and intragenic deletions or duplications are known to cause Alport syndrome [Savige, 2014]. Recently, using exome sequencing, missense mutations in *AMMECR1* have been associated with intellectual disability, mid-face hypoplasia and elliptocytosis [Andreoletti et al., 2016; Basel-Vanagaite et al., 2017]. In these cases, hematuria and proteinuria were absent. Therefore, *AMMECR1* gene appears to be responsible for most of the clinical features of the AMME syndrome except for Alport syndrome. In this article, we present two unrelated male patients with short stature, mild intellectual disability or neurodevelopmental delay, sensorineural hearing loss and elliptocytosis harboring small microdeletions identified by array-CGH involving only two genes *TMEM164* and *AMMECR1,* inherited from their mothers. These original cases further confirm that most specific AMME features are ascribed to *AMMECR1* haploinsufficiency. In addition we want to emphasize some specific symptoms that permit to better characterize a new syndrome of Developmental delay, Midface hypoplasia, Midline defect, Deafness and Short stature (DMMDS)

Abstract_Assises_2018_Poreau.docx

P242 : Le syndrome 49, XXXXY: à propos d'une observation et revue de la littérature

Auteurs :

Wafaa Jdioui (1), lamiae boualla (2), Siham Chafai Elalaoui (3), Ilham Ratbi (2), Abdelaziz Sefiani (3)

1. Département de génétique médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Rabat, Maroc
2. Département de génétique médicale, Centre de génomique humaine, Faculté de médecine et de pharmacie, université Mohammed V Souissi, Rabat., Rabat, Maroc
3. , , Rabat, Maroc

Mots clefs : syndrome 49,anomalie chromosomique, caryotype

Résumé :

Introduction : Le syndrome 49,XXXXY représente une anomalie chromosomique à type d'aneuploïdie caractérisée par la présence de trois chromosomes X supplémentaires chez un garçon. L'incidence annuelle est comprise entre 1/85 000 et 1 /100 000 naissances vivantes mâles. Le syndrome 49,XXXXY se traduit cliniquement par un retard de croissance, un retard mental sévère, un hypogonadisme, une dysmorphie faciale et des malformations cardiaques et squelettiques. Le diagnostic positif est posé par le caryotype, qui montre une formule chromosomique à 49,XXXXY.
Observation : Nous rapportons l'observation d'un jeune homme âgé de 17 ans, adressé en consultation de génétique médicale pour syndrome dysmorphique et cardiopathie. A L'examen, il présente un retard mental modéré, un morphotype longiligne avec un pectus excavatus, un visage long et des yeux en orientation mongoloïde. Devant ce tableau clinique, nous avons réalisé un caryotype standard en Bandes R.
Résultat : Le caryotype a montré la présence de 3 chromosomes X surnuméraires sur toutes les mitoses observées, confirmant le diagnostic du syndrome 49,XXXXY.
Discussion : Le syndrome 49,XXXXY est fait d'un déficit intellectuel d'aggravation progressive, un retard de croissance, un hypogonadisme sévère et des malformations multiples. Le tableau clinique de notre patient comporte un retard mental modéré, un syndrome dysmorphique et une cardiopathie congénitale.
Conclusion : Nous illustrons, à travers cette observation, le rôle du généticien dans la prise en charge du syndrome 49,XXXXY en confirmant le diagnostic par caryotype et en proposant un conseil génétique adéquat à la famille.

syndrome 49 xxxxy final.docx

P243 : Syndromes microdeletionnels(syndrome de Williams-beuren et syndrome de Prader-Willi (SPW))

Auteurs :

hasna hamdaoui (1, 2), Aziza Belkhayat (3), Houda Benrahma (4, 3), Fatima Chegdani (5), Hossain Mossafa (3), Karim Ouldim (3, 4)

1. Pôle cytogénétique, Laboratoire National de référence, casablanca, Maroc
2. Département de biologie moléculaire, Faculté des Sciences Ain Chock, Casablanca, Maroc
3. Pôle cytogénétique, Laboratoire National de référence, Casablanca, Maroc
4. , Université Mohammed VI des Sciences de la Santé, Casablanca, Maroc
5. , Faculté des Sciences Ain Chock, Casablanca, Maroc

Mots clefs : syndrome microdéletionnel, microdéletion, FISH

Résumé :

Introduction : Les syndromes microdélétionnels sont définis par la présence d'une anomalie chromosomique de taille mineure (inférieure à 5 mégabases) ou aneusomie segmentaire, décelable par cytogénétique moléculaire (FISH : Fluorescent in Situ Hybridization). Les syndromes microdélétionnels représentent des syndromes cliniques avec des phénotypes suffisamment caractéristiques pour être reconnus cliniquement. Actuellement la FISH est la technique de choix pour rechercher ces syndromes. Plusieurs syndromes microdélétionnels peuvent être confirmés aisément, les plus recherchés sont Le syndrome de Williams (microdélétion en 7q11.23) et le syndrome de la délétion 15q11.2-q13 (microdélétion en 22q11.2). Le syndrome de Williams est caractérisé par une anomalie du développement qui associe un retard psycho-moteur, une dysmorphie du visage évocatrice et un profil cognitif et comportemental spécifique, une sténose aortique supravalvulaire -SASV- le plus souvent. Le syndrome de Prader-Willi (SPW) est une maladie génétique rare, qui se caractérise par un dysfonctionnement hypothalamohypophysaire associé à une hypotonie majeure pendant la période néonatale et les deux premières années de vie. De l'enfance à l'âge adulte, les problèmes principaux sont l'apparition d'une hyperphagie avec le risque d'obésité morbide, des difficultés d'apprentissage et des troubles du comportement, voire des troubles psychiatriques majeurs.
Méthodes : Cette microdélétion est décelable uniquement par l'utilisation des techniques de haute résolution ou de cytogénétique moléculaire dont la plus utilisée en pratique médicale est l'Hybridation in situ fluorescente FISH (Fluorescent in Situ Hybridization), qui repère une séquence spécifique par une sonde complémentaire d'ADN marqué en fluorescence.
Résultats : Nous rapportons nos premières observations au laboratoire national de référence (LNR) de l'Hôpital Cheikh Khalifa de Casablanca confirmées par FISH : Syndrome dePrader-Willi (délétion 15q11.2-q13) et un syndrome de Williams-Beuren (7q11.23).
Conclusion : L'apport de la cytogénétique moléculaire (FISH) est capital pour l'exploration des syndromes microdélétionnels ayant pour but la confirmation diagnostic, le conseil génétique et la prise en charge qui est le plus souvent multidisciplinaire.

P244 : Fausses couches et anomalies chromosomiques équilibrées parentales

Auteurs :

hasna hamdaoui (1, 2), Hasna Terfous (3), Fatima Chegdani (4), Hossain Mossafa (3), Karim Ouldim (3, 5)

1. Pôle cytogénétique, Laboratoire National de référence, casablanca, Maroc
2. Département de biologie moléculaire, Faculté des Sciences Ain Chock, Casablanca, Maroc
3. Pôle cytogénétique, Laboratoire National de référence, Casablanca, Maroc
4. , Faculté des Sciences Ain Chock, Casablanca, Maroc
5. , Université Mohammed VI des Sciences de la Santé, Casablanca, Maroc

Mots clefs : fausses couches, translocation equilibrée

Résumé :

Le nombre de grossesses qui n'aboutissent pas à terme est estimé à 15% et à 1% la proportion de couples qui consultent en gynécologie pour au moins trois fausses couches, répondant ainsi à la définition de maladie abortive.
Les anomalies chromosomiques équilibrées constituent une des causes des fausses couches précoces et répétées. Les translocations chromosomiques robertsoniennes ou réciproques, sont les anomalies les plus observées, car elles prédisposent à la production de gamètes génétiquement non équilibrés et par conséquent à des fœtus non viables.
Nous rapportons 2 observations de couples ayant des fausses couches répétées secondaires à des translocations équilibrées chez l'un des parents.
Le caryotype été réalisé chez des couples avec au moins trois fausses couches. Nous avons identifié 2 anomalies chromosomiques : deux translocations réciproques : t(1;7) ; t(3;18) .
Une étude complémentaire a été faite par la technique de FISH et qui a confirmé ces translocations sans l'implication d'une autre paire dans ces remaniements.
Le conseil génétique vise à expliquer aux couples le mécanisme responsable de l'échec de la reproduction, leur faire comprendre l'inefficacité des thérapeutiques hormonales et la possibilité théorique de mener des grossesses à terme. Il permet également d'estimer le risque de donner naissance à un enfant malformé et de proposer aux parents les différents moyens de suivi de ces grossesses très désirées.

P245 : Apport du NGS pour le diagnostic génétique des patients atteints de phéochromocytome et paragangliome

Auteurs :

Nelly Burnichon (1), Laurene Ben Aim (1), Mathilde Padilla (2), Michel Crepin (3), Caroline Travers (1), Nelly LE POTTIER (1), Valentin Adamus (1), Lucie COPPIN (3), Mathieu Madelaine (1), Alexandre Buffet (4), Judith Favier (4), Pascal Pigny (3), Anne-Paule Gimenez-Roqueplo (5)

1. Département de Génétique, Hôpital européen Georges Pompidou, Paris, France
2. Département de Génétique, Hôpital européen Georges Pompidou, paris, France
3. Centre de Biologie Pathologie Génétique, Centre Hospitalier Régional Universitaire de Lille, Lille, France
4. U970 PARCC HEGP, INSERM, Paris, France
5. Département de Génétique, Hôpital européen Georges Pomidou, Paris, France

Mots clefs : NGS, oncogénétique, constitutionnel, somatique, mosaique

Résumé :

Contexte
Les paragangliomes et phéochromocytomes (PPGL) sont des tumeurs neuroendocrines rares, ayant la particularité de présenter un fort déterminisme génétique. A ce jour, plus de 15 gènes de susceptibilité ont été identifiés. Il est actuellement admis qu'une mutation constitutionnelle ou somatique sur l'un de ces gènes de prédisposition est retrouvée dans près de 60% des cas. En raison de cette forte prévalence de mutations et de l'identification d'une mutation constitutionnelle dans plus de 10% des cas de présentation apparemment sporadique, les recommandations internationales préconisent qu'un test génétique doit être proposé à tout patient atteint de PPGL.
Dans ce contexte, l'utilisation du séquençage nouvelle génération (NGS) permettant l'analyse simultanée de tous les gènes impliqués dans la tumorigenèse des PPGL s'avère tout à fait pertinente.

Matériel
Une cohorte rétrospective comprenant 202 ADN tumoraux préalablement analysés par séquençage Sanger partiel a été utilisée afin de valider le protocole NGS. Depuis le transfert en routine diagnostique, 550 ADN leucocytaires et 58 ADN tumoraux (dont 33 issus de tissus inclus en paraffine - FFPE) ont été analysés en panel NGS.

Méthodes
Nous avons développé et optimisé un panel NGS ciblé "à façon" basé sur une technologie amplicon (kit SDH-MASTRPlus v2, Multiplicom) analysé sur séquenceur MiSeq (Illumina). Le panel comprend 17 gènes d'intérêt, incluant 182 exons, couverts par 451 amplicons de taille compatible avec une analyse des ADNs FFPE. Les données ont été analysées à l'aide du logiciel SeqNext (JSI) et de l'interface PolyDiag (Université Paris Descartes). La pathogénicité des variants identifiés a été évaluée par immunohistochimie chaque fois que possible.

Résultats
Toutes les mutations précédemment identifiées par méthode Sanger ont été confirmées par NGS (n = 131). Des mutations non connues au préalable ont été identifiées dans 19 tumeurs de la cohorte rétrospective. Dans l'étude prospective, 94 variants d'intérêt (classe 3 à 5) constitutionnels et 16 somatiques ont été identifiés. En particulier, une mutation du gène *SDHB* présente à l'état de mosaïque constitutionnelle a pu être mise en évidence.

Conclusion
L'utilisation en routine du panel NGS ciblé "SDH-MASTRPlus v2" pour l'analyse des patients atteints de PPGL a permis d'améliorer la détection des mutations responsables, en particulier des mutations somatiques et mosaïques. De plus, l'analyse des échantillons tumoraux grâce à ce panel permet d'évaluer l'implication réelle des différents gènes de prédisposition dans le développement des PPGL sporadiques.

P246 : Leucémie myéloide chronique : Anomalies cytogénétiques additionnelles et résistance au traitement

Auteurs :

Hela Bellil (1, 2), Hend Chaker (1, 3), Yasmine El Ayeb (4, 5), Wiem Ayed (1, 5), Lamia Aissaoui (6, 7), Manel Bchir (8, 5), Hela Ben Abid (8, 5), Raihane Ben Lakhal (8, 5), Hend Ben neji (8, 5), Neila Ben Romdhan (9, 5), Balkis Meddeb (8, 5), Ahlem AMOURI (1, 10)

1. Histologie et Cytogénétique Médicale, Institut Pasteur de Tunis, Tunis, Tunisie
2. Faculté de pharmacie de Monastir, Université de Monastir, Monastir, Tunisie
3. Faculté de pharmacie de Monastir, Université de Monastir, Tunis, Tunisie
4. Histologie et Cytogénétique Médicale, Institut Pasteur de Tunis, Tunis, Trinité-et-Tobago
5. Faculté de Médecine de Tunis, Université Tunis El MANAR, Tunis, Tunisie
6. Hématologie clinique, Hopital Aziza Othmana, tunis, Tunisie
7. Faculté de Médecine de Tunis, Université Tunis El MANAR, tunis, Tunisie
8. Hématologie clinique, Hopital Aziza Othmana, Tunis, Tunisie
9. Hématologie , Hopital La Rabta, Tunis, Tunisie
10. Faculté de Médecine de Tunis, Institut Pasteur de Tunis, Tunis, Tunisie

Mots clefs : leucémie myéloide chronique/caryotype/anomalies chromosomiques/résistance au traitement

Résumé :

La leucémie myéloïde chronique (LMC) est une hémopathie myéloproliférative caractérisée par la prolifération incontrôlée de progéniteurs hématopoïétiques. Dans 5% des LMC au diagnostic, on détecte des anomalies cytogénétiques additionnelles (ACA) dans les mitoses présentant la t(9;22). La classification de l'Organisation Mondiale de la Santé suggère que les patients présentant des ACA émergeant pendant le traitement devraient être considérés comme des phases accélérées.
Les inhibiteurs de tyrosine kinase (ITK) ont révolutionné le pronostic de la maladie. Sous traitement, la maladie peut être contrôlée et maintenue à un très faible niveau résiduel. Cet état de quiescence de la leucémie peut persister pendant plusieurs années. Cependant, des altérations génomiques et/ou génétiques additionnelles à l'acquisition de la t (9;22)(q34;q11) peuvent survenir et être associées à une rechute clinique et/ou à une résistance au traitement.
Nous présentons ici les résultats d'une étude rétrospective qui a colligé 306 cas de LMC diagnostiqués ou suivis au laboratoire d'Histologie et de Cytogénétique de l'Institut Pasteur entre Janvier 2013 et Septembre 2017.
L'analyse cytogénétique a été effectuée sur moelle osseuse et l'interprétation du caryotype a été faite selon la nomenclature ISCN (International System for Cytogenetic Nomenclature 2013). Au moins 20 métaphases ont été analysées.
Les patients avaient un âge moyen de 46 ans.16 % présentaient des ACA au niveau du caryotype.
35 % de ces patients ont développé ces ACA au cours du traitement par un ITK de 1ère ou de 2ème génération. Les chromosomes les plus incriminées étaient les chromosomes 8,13 ,17 et 22. Les anomalies de nombre étaient majoritaires et les anomalies structurales variaient entre délétions, additions ainsi que des translocations équilibrées et déséquilibrées.
Un patient a présenté une disparition du chromosome philadelphie au cours du traitement avec persistance de l'anomalie additionnelle (Trisomie 8). Un autre caryotype a été caractérisé par la disparition d'une ACA et l'apparition d'une autre avec persistance du chromosome Ph au cours du traitement.
Les mécanismes de résistance aux ITK sont variables. Certains sont BCR-ABL dépendants. D'autres sont induits par une évolution clonale (ACA) qui met en jeu d'autres oncogènes que BCR-ABL. Notre étude a pour but de caractériser les ACA qui pourraient coopérer avec la fusion BCR-ABL dans la progression de la LMC et être impliqués dans la résistance au traitement de la LMC en phase avancée. La caractérisation des événements génétiques associés à la transformation blastique de la LMC est essentielle pour l'investigation des voies moléculaires impliquées dans cette phase de la maladie. Investiguer la résistance au traitement de ces patients pourrait aussi contribuer à identifier de nouvelles cibles thérapeutiques dans cette leucémie.

Abstract LMC_Assises de Génétique 2018_Vu AA.pdf

P248 : NBR1, un nouveau gène de prédisposition au cancer du rein familial ?

Auteurs :

Florine Adolphe (1, 2), Sophie Ferlicot (3, 4), Virginie Verkarre (5, 4), Michaël Bayaram (6), Sophie Deveaux (4, 7), Sophie Couvé (1, 2), Betty Gardie (1, 8), Nathalie Droin (9), Guillaume Meurice (10), Sophie Giraud (11, 12), Brigitte Bressac-de Paillerets (13, 12), Stéphane Richard (14, 12), Sophie Gad (1, 2)

1. Génétique Oncologique, Ecole Pratique des Hautes Etudes, PSL, Paris, France
2. UMR INSERM U1186, Gustave Roussy, Université Paris-Sud, Paris-Saclay, Villejuif, France
3. Service d'Anatomie Pathologique, CHU de Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France et UMR INSERM U1186, Gustave Roussy, Université Paris-Sud, Paris-Saclay, Villejuif, France
4. Réseau National pour Cancers Rares de l'adulte PREDIR, AP-HP/INCa, Service d'Urologie, CHU de Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France
5. Service d'Anatomie Pathologique, Hôpital Européen Georges Pompidou, AP-HP, Paris, France
6. Laboratoire de BioPathologie, CHU de Reims, Reims, France
7. Réseau d'Oncogénétique INCa "Maladie de VHL et prédispositions héréditaires au cancer du rein", CHU de Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France
8. Institut de Recherche Thérapeutique, UMR Inserm U892 / CNRS 6299, CRCNA, Nantes, France
9. Plateforme de Génomique, Gustave Roussy, Villejuif, France
10. Plateforme de Bioinformatique, Gustave Roussy, Villejuif, France
11. Service de Génétique, Plateforme de Biologie Moléculaire BIOGENET EST, et Consultations d'Oncogénétique, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
12. Réseau National pour Cancers Rares de l'adulte PREDIR, AP-HP/INCa, Service d'Urologie et Réseau d'Oncogénétique INCa "Maladie de VHL et prédispositions héréditaires au cancer du rein", CHU de Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France
13. Département de Biopathologie, Service de Génétique, et UMR INSERM U1186, Gustave Roussy, Université Paris-Sud, Paris-Saclay, Villejuif, France
14. Génétique Oncologique, Ecole Pratique des Hautes Etudes, PSL, Paris, France et UMR INSERM U1186, Gustave Roussy, Université Paris-Sud, Paris-Saclay, Villejuif, France

Mots clefs : Génétique, Cancers du rein, Autophagie

Résumé :

Le cancer du rein représente le sixième cancer le plus fréquent chez l'adulte en France, avec 11.000 nouveaux patients 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 5% de l'ensemble des cancers du rein mais sont d'un intérêt capital tant au plan clinique que fondamental.
Les formes familiales des cancers rénaux se transmettent selon le mode autosomique dominant. A ce jour, il existe une dizaine de gènes de prédisposition au cancer du rein parmi lesquels *VHL (*responsable de la maladie de von Hippel-Lindau)*, FLCN* (syndrome de Birt-Hogg-Dubé)*, FH* (léiomyomatose héréditaire) et *MET* (carcinome papillaire de type 1 héréditaire). Globalement, les protéines codées par ces 4 gènes majeurs interviennent dans la voie de réponse à l'hypoxie via le facteur de transcription HIF, jouant un rôle central dans la carcinogenèse par son implication 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 Réseau National pour Cancers Rares de l'adulte PREDIR. Afin de rechercher de nouveaux gènes de prédisposition aux cancers du rein, nous avons sélectionné 13 familles pour lesquelles un séquençage d'exome a été réalisé (Plateforme de *Gustave Roussy*). Après analyses bioinformatiques, nous nous sommes focalisés sur certains gènes candidats.
Parmi ces familles, l'une comprenant 3 cas atteints de tumeurs du rein de types histologiques différents (un carcinome papillaire de type 1, un carcinome à cellules claires, et un angiomyolipome) présente une mutation germinale de type perte de fonction dans le gène *NBR1* (Neighbor Of BRCA1 Gene 1). Il s'agit d'un récepteur de l'autophagie permettant l'attachement de protéines et organelles endommagées aux autophagosomes pour qu'elles y soient dégradées. Il a été montré que NBR1 est nécessaire au maintien de l'homéostasie et des fonctions biologiques cellulaires, notamment via son implication dans la pexophagie, et le renouvellement des protéines d'adhérence focale lors de la migration cellulaire. Enfin, la dérégulation de l'autophagie est impliquée dans de multiples maladies, dont les cancers, et particulièrement dans les cancers rénaux avec la surexpression des voies mTOR et HIF, régulateurs majeurs de l'autophagie.
Des expériences de génétique fonctionnelle sont en cours afin d'évaluer le caractère délétère de cette mutation de *NBR1* et mieux comprendre la physiopathologie des cancers du rein familiaux.

P249 : Dérégulation d'un gène : quand les TAD s'en mêlent ?

Auteurs :

Anouck Schneider (1), Kévin Yauy (2), Satish Sati (3), Vincent Gatinois (2), Jacques Puechberty (4), Jean-Baptiste Gaillard (2), Thomas Guignard (2), Pauline Bouret (1), Bee Ling Ng (5), Christine Coubes (6), Franck Pellestor (1)

1. Laboratoire de Génétique Chromosomique, CHRU Arnaud De Villeneuve, Montpellier, France
2. Unité de Génétique Chromosomique, Hôpital Arnaud De Villeneuve, Montpellier, France
3. Equipe "Chromatine et Biologie Cellulaire", Institut de Génétique Humaine, Montpellier, France
4. Département de Génétique Médicale, CHRU Arnaud De Villeneuve, Montpellier, France
5. Cytometry Core Facility , The Wellcome Trust Sanger Institute, Wellcome Trust Genome Campus, Hinxton - Cambridge , Royaume Uni
6. Département de Génétique Médicale, Hôpital Arnaud De Villeneuve, Montpellier, France

Mots clefs : TAD, MEF2C, Expression

Résumé :

Nous rapportons le cas d'une petite fille présentant une déficience intellectuelle associée à des troubles relationnels, un retard précoce de développement, des troubles du langage, une dissociation automatico-volontaire et des variations morphologiques mineures.

Les techniques de cytogénétique classique et moléculaire montrent une formule chromosomique à 46 chromosomes correspondant à un sexe féminin associée à une translocation réciproque apparemment équilibrée *de novo* :
46,XX,t(3;5)(p26;q13.3)dn.ish t(3;5)(wcp5+,wcp3+;wcp5+,wcp3+).
Lors de l'analyse chromosomique sur puce à ADN, aucun déséquilibre n'a été retenu pour expliquer le phénotype de cette enfant. Dans ce contexte, nous avons cherché à identifier les points de cassure de cette translocation afin de trouver des gènes pouvant être interrompus et être considérés comme responsables du phénotype.
Pour cela, nous avons mis en œuvre la technique d'« Array-Painting » suivie d'un séquençage par méthode Sanger. Le point de cassure sur le chromosome 5 a été localisé en 5q14.3 à 228 kb en amont de l'ATG du gène *MEF2C*. Aucun gène intéressant au niveau ou proche du point de cassure sur le chromosome 3 n'a été mis en évidence.
Le gène *MEF2C* est connu pour être responsable du Syndrome « Mental Retardation, Autosomal Dominant 20 » (OMIM #613443) et les observations rapportées dans la littérature suggèrent qu'une haplo-insuffisance de ce gène serait responsable d'un phénotype particulier. L'étude de l'expression de *MEF2C* dans les lignées lymphoblastoïdes de cette enfant montre une augmentation. Si la pathogénicité de *MEF2C* en haplo-insuffisance n'est plus à prouver, l'inverse est peu décrit dans la littérature. Le principal signe clinique de cette duplication est une déficience intellectuelle et nous suggérons que cette surexpression serait responsable du phénotype. Le mécanisme suspecté serait une réorganisation des TAD (Topologically Associating Domain) du fait de la translocation t(3;5). En effet, les TAD représentent une nouvelle voie d'approche pour expliquer l'expression phénotypique d'un remaniement chromosomique en l'absence d'identification d'un gène interrompu au niveau d'un point de cassure chromosomique.
Afin de vérifier cette hypothèse, des techniques de FISH 2D ont été réalisées pour visualiser *in situ* ces phénomènes de contact entre différents domaines génomiques et donc de confirmer une nouvelle réorganisation locale des TAD.

P250 : COMPARAISON DE LA SOLUTION ACCEL AMPLICON™ 56G ET TUMOR HOT SPOT MASTR

Auteurs :

Fabienne Barbet (1), Benoit Quilichini (2), Saeed Omidi (3), Vanna Geromel (1)

1. Service de génétique et onco-génétique moléculaire, Eurofins-Biomnis, Lyon, France
2. Service de cytogénétique et génétique oncologie, Eurofins-Biomnis, Lyon, France
3. Bioinformatics, Sophiagenetics, Saint-Sulpice, Suisse

Mots clefs : tumeurs solide, FFPE, panel de génes, NGS

Résumé :

Introduction et objectifs
Lors de la mise en place d'une approche NGS par panel de gènes pour l'analyse de tumeurs solides, nous avons été amenés à comparer deux solutions commerciales sur une série de douze échantillons. La performance du panel Accel Amplicon™ 56G de Sophia Genetics et du panel Tumor HotSpot MASTR de Agilent-Multiplicom à été réalisée sur une sélection de 24 gènes. La comparaison a permis de choisir la solution la mieux adaptée à notre routine par rapport à l'organisation de la plateforme de séquençage, à notre recrutement et au délai de rendu de résultat.
Matériels et Méthodologie
12 échantillons d'ADN dont 5 ADN control de qualité (2 ADN Horizon et 3 contrôles de qualité externe) et 7 ADN tumoral de patient. L'ADN à été extrait à partir de coupes tissulaire FFPE à 10 μm avec le kit Qiagen DNeasy Blood and Tissue. Les dosages des ADN ont été réalisés au Qubit.
Pour la réalisation des amplifications, des banques et du séquençage, les protocoles respectifs du Accel Amplicon™ 56G et THS MASTR ont étés suivis et réalisés par la même personne.
Les données FASTQ en sortie du séquençage ont été analysées en collaboration avec Sophia Genetics et leur pipeline bioinformatique. L'analyse a porté non seulement sur la capacité à détecter les variants attendus mais aussi sur le nombre de reads, leurs mapping, l'uniformité de la profondeur. La quantité de matériel de départ, le multiplexage possible et la durée de la technique ont été aussi comparés.
Résultats et discussion
Du point de vu technique pour réaliser les librairies et les doser, le panel THS requiert deux jours et demi de manipulation contre deux jours pour le panel 56G. Le dosage des banques est réalisé par nanodrop avec le THS et est donc rapide alors que pour le 56G, une qPCR est préconisée et requiert environ une journée de travail. Au niveau du séquençage, l'utilisation d'une flowcell V3 permet dans le cas du THS le séquençage d'une série de 11-12 échantillons contre 15-16 pour le 56G. L'analyse de la performance à montré une bonne qualité de chaque run, une profondeur moyenne respectivement de 5759 pour le 56G et de 8315 pour le THS, un nombre de variant similaire a été retrouvé, aucun faux négatif n'à été mis en évidence. Ce qui parait en revanche évident est que la préparation des banques dans le cas du panel 56G n'est pas dépendante de la qualité des échantillons, ce qui permet d'une part d'utiliser une quantité moindre d'échantillon, entre 20 et 30 ng et d'autre part d'obtenir un taux de couverture plus homogène.
Conclusion
Une quantité de matériel de départ plus faible, un temps de technique plus court, un multiplexage plus important sur la Flow Cell, ainsi qu'une sensibilité moins importante vis-à-vis de la qualité de l'échantillon sur couverture et la profondeur nous ont amené à choisir le panel Accel 56G de Sophia Genetics pour notre routine.

P251 : La maladie de Von Hippel-Lindau : A propos de deux familles Tunisiennes

Auteurs :

rym Meddeb (1), asma lanouar (1), imen chelly (1), mediha Trabelsi (1), Ridha Mrad (1)

1. service des maladies congénitales et héréditaires, hôpital Charles Nicolle, tunis, Tunisie

Mots clefs : maladie de Von hippel-lindau, gène VHL, prédisposition

Résumé :

La maladie de Von Hippel-Lindau est un syndrome de prédisposition aux cancers qui associe essentiellement des hémangioblastomes rétiniens, cérébelleux et de la moelle épinière, un carcinome rénal à cellules claires, des phéochromocytomes et des kystes rénaux et pancréatiques. Ce syndrome est de transmission autosomique dominante avec une forte pénétrance et il est dû à des mutations du gène VHL.
Objectif : Présenter les particularités cliniques de deux familles tunisiennes chez qui on a confirmé la maladie VHL et établir une corrélation génotype phénotype.
Matériels et Méthodes : Nous disposons d'un cas index de chaque famille. Les deux patients ont été adressés à notre consultation pour suspicion de la maladie VHL. Une extraction d'ADN à partir d'un prélèvement de sang périphérique et un séquençage des régions codantes et des jonctions intron-exon du gène VHL ont été réalisés.
Résultats : Le cas index de la famille 1 a développé un cancer du rein gauche à 33 ans pour lequel il a eu une néphrectomie gauche avec à l'examen anatomopathologique un carcinome à cellules rénales claires. A l'âge de 44 ans, le patient a fait une récidive sur le rein controlatéral. L'enquête génétique ne retrouve pas d'antécédents familiaux particuliers et le bilan paraclinique de la maladie VHLne retrouve aucune autre anomalie. L'étude moléculaire du gène VHL réalisée chez le cas index a retrouvé une mutation faux sens c.233A>G (p.Asn78Ser). Pour la famille 2, le cas index, âgé de 32 ans, nous a été adressé devant des antécédents personnels et familiaux de tumeurs évoquant la maladie VHL. Le patient a bénéficié à l'âge de 26 ans d'une IRM cérébrale de dépistage qui a mis en évidence une lésion tumorale du cervelet. Cette lésion est devenue par la suite symptomatique et a nécessité une exérèse chirurgicale. Le patient a également développé une tumeur du rein gauche de type carcinome à cellules claires. L'enquête génétique a révélé la notion d'un hémangioblastome du cerveletchez le frère etla sœur à 30 et 28 ans respectivement. Le séquençage du gène VHL a mis en évidence une mutation au niveau de l'exon 2 c.407T>C (Phe136Ser).
Discussion : l'âge de survenue du cancer du rein, la forme bilatérale et le type histologique constituent des arguments d'appui pour suspecter une forme syndromique chez le cas index de la famille 1 et justifier l'étude du gène VHL. Les deux mutations identifiées chez les deux familles ont été décrites auparavant dans la littérature.La mutation N78S a été corrélée au développement d'hémangioblastomes et de phéochromocytomes ce qui n'a pas été retrouvé chez la première famille. La mutation Phe136Serest associée aux hemangioblastomes et au cancer du rein ce qui est en corrélation avec le phénotype de la famille2.
Conclusion : la maladie VHL se caractérise par une variabilité clinique intra et interfamiliale. L'étude moléculaire permet de confirmation la prédisposition dans la famille et orienter la surveillance des personnes à haut risque.

P252 : Étude des caryotypes sanguins au niveau du service de cytogénétique de l'Institut Pasteur Du Maroc

Auteurs :

SIHAM Ait Moulay Abdellah (1), JAMILA Abouelfaraj (1), lunda Razouki (1), latifa Zarouf (1), zouhair elkarhat (1), sanaa nassereddine (1)

1. LABORATOIRE DE CYTOGENETIQUE, INSTITUT PASTEUR DU MAROC, CASABLANCA, Maroc

Mots clefs : cytogénétique, caryotype sanguin, chromosome métaphasique, anomalies constitutionnelles

Résumé :

Les anomalies chromosomiques peuvent être à l'origine d'un grand nombre d'avortements spontanés, de syndromes dysmorphiques, de syndromes polymalformatifs, de déficience intellectuelle et d'infertilité.
L'étude cytogénétique est une étape incontournable permettant de poser le diagnostic d'une grande variété de syndrome issue d'anomalie chromosomique.

Les objectifs de notre étude sont :

*Identifier les différentes anomalies chromosomiques rencontrées chez les patients adressés pour étude cytogénétique postnatale et de déterminer leur prévalence pour chaque tranche d'âge.
*Réaliser une corrélation entre les indications cliniques et les résultats cytogénétique afin de connaitre le degré de satisfaction des besoins des cliniciens.

Il s'agit d'une étude rétrospective sur un échantillon de 1106 patients référés au service de cytogénétique au sein de l'institut pasteur du Maroc Casablanca pour étude cytogénétique constitutionnelle post-natale. La période de notre étude s'étale sur un an et demi depuis janvier 2016 à mai 2017.

L'analyse des données a objectivé les résultats suivants : 77.8 % des patients référés ont un caryotype normal et 22.2 % ont un caryotype anormal. Et sur le plan chromosomique on trouve : 82.9 % ont une anomalie des autosomes, 16.3 % ont une anomalie des gonosomes dont deux cas soit présentent une inversion sexuel. Tandis que 0.81% révélé une coexistence d'anomalie autosomique gonosomique.

La trisomie 21 représente à la fois le motif de référence le plus fréquent (67.65 %) et en même temps l'anomalie chromosomique la plus courante. Les données de notre étude ont aussi montré que la majorité des patients ayant des anomalies chromosomiques sont de sexe masculin.

Ces résultats sont majoritairement en accord avec les données de la littérature. Ils montrent une variabilité des anomalies chromosomiques parmi les patients porteurs de caryotype anormal dans notre étude.

Résumé ASSISES 2018 NANTES.doc

P253 : Insertion réciproque 14;22 à l'origine de fausses couches à répétition

Auteurs :

Gaëlle SALAUN (1), Celine PEBREL-RICHARD (2), Christine FRANCANNET (3), Baptiste TROUDE (3), Florence BRUGNON (4), Hanae PONS (4), Laetitia GOUAS (2), Eleonore EYMARD-PIERRE (2), Andrei TCHIRKOV (2), Philippe VAGO (2), Carole GOUMY (2)

1. Cytogénétique Médicale, CHU Estaing, Clermont ferrand, France
2. Cytogénétique Médicale, CHU Estaing, Clermont Ferrand, France
3. Génétique Médicale, CHU Estaing, Clermont-Ferrand, France
4. Biologie de la Reproduction, CHU Estaing, Clermont-Ferrand, France

Mots clefs : Insertion réciproque interchromosomique, fausses couches à répétition, sperm FISH, 14q11.2, 22q11.2

Résumé :

Les insertions réciproques interchromosomiques sont des réarrangements très rares. Ils consistent en un échange de segment interstitiel entre deux chromosomes et nécessitent donc la présence de quatre points de cassure. Seul 12 cas ont été publiés [Bernardini et al., 2008 ; Harbuz et al., 2013 ; Kang et al., 2010 ; Manolakos et al., 2011].
Nous rapportons le cas d'un homme de 28 ans adressé dans le service de Génétique Médicale suite à la survenue de 3 fausses couches spontanées (FCS) chez sa compagne. L'histoire familiale retrouve également la notion de 6 fausses couches spontanées chez sa mère. Le caryotype du patient (bandes GTG et RHG ; résolution : 400-550) met en évidence la présence d'un chromosome 14 atypique avec une bande sombre dans la région 14q11 en bandes R. La FISH de peinture du chromosome 14 montre une absence de marquage sous le centromère d'un des deux chromosome 14 ainsi que la présence de deux signaux sous les centromères des chromosomes 22 correspondant à l'hybridation croisée des séquences alpha-satellites péricentromériques. Une FISH à l'aide des sondes LSI DiGeorge N25 (22q11) et LSI TRA/D break-appart (14q11.2) a permis de confirmer la présence de l'insertion réciproque interchromosomique entre les régions chromosomiques 14q11.2 et 22q11.2. L'enquête familiale a montré que cette inversion était héritée du père du patient. L'étude par Sperm FISH (LSI N25 ; TRA/D break appart) a révélé que plus de 40 % des gamètes du patient étaient déséquilibrés malgré des paramètres normaux au spermogramme (normes WHO 2010).
À notre connaissance, il s'agit de la première étude de la ségrégation méiotique par sperm FISH chez un patient présentant une insertion réciproque interchromosomique. Les déséquilibres de la région 22q11.2 sont bien connus et ne semblent pas être à l'origine des FCS. La région du chromosome 14 impliquée dans le réarrangement est comprise entre le gène *RPGRIP1* (marqué par la sonde 3'TRA/D) et le centromère. Les microdélétions de la région 14q11.2 emportant les gènes *SUPT16H* et *CDH8* sont rares et associées à un retard du développement, une déficience intellectuelle, des troubles du spectre autistique et une macrocéphalie (Drabova et al., 2015). L'haploinsuffisance des gènes *APEX1* et *PARP2*, impliqués dans la réparation de l'ADN, ainsi que de plusieurs gènes de la famille des *RNase A* pourrait être impliquée dans la survenue des FCS. En effet, une étude réalisée à partir de la base de donnée DAVID a montré l'association entre les délétions de l'allèle paternel du gène *RNase 3* et la survenue de FCS (Bagheri et al., 2015).
La description de cas supplémentaire serait nécessaire pour préciser l'implication des déséquilibres de la région 14q11.2 dans la survenue de fausses couches à répétition.

P254 : Contribution des variants délétères du gène PALB2 dans le syndrome « sein/ovaire », caractéristiques génétiques et cliniques des sujets porteurs de variants délétères

Auteurs :

Antoine DE PAUW (1), Fabienne LESUEUR (2), Anthony LAUGE (1), Marion GAUTHIER-VILLARS (1), Bruno BUECHER (1), Emmanuelle FOURME (3), Claire SAULE (3), Marine LE MENTEC (1), Anaïs DUPRE (1), Ophélie BERTRAND (3), Anne-Marie BIROT (3), Catherine DUBOIS D'ENGHIEN (1), Virginie MONCOUTIER (1), Henrique TENREIRO (1), Khadija ABIDALLAH (1), Christophe GUY (1), Jennifer CARRIERE (1), Nicolas VIELLARD (1), Christelle BERTHEMIN (1), Catherine DEHAINAULT (1), Camille TOUSSAINT (1), Alice FIEVET (1), Claude HOUDAYER (1, 4), Dominique STOPPA-LYONNET (1, 4), Lisa GOLMARD (1)

1. Service de génétique, Institut Curie, Paris, France
2. INSERM U900, Institut Curie, Paris, France
3. Service de génétique, Institut Curie, Saint-Cloud, France
4. INSERM U830 - Université Paris Descartes, Institut Curie - Sorbonne Paris Cité, Paris, France

Mots clefs : PALB2, cancer du sein, cancer de l'ovaire, corrélation génotype/phénotype, oncogénétique

Résumé :

Introduction. Depuis 2015 en France, le gène *PALB2* est analysé dans le cadre du diagnostic génétique de prédisposition aux cancers du sein et de l'ovaire, en plus des gènes *BRCA1* et *BRCA2*. Cette étude a pour objectif d'améliorer les connaissances sur les caractéristiques génétiques et cliniques des sujets porteurs de variants délétères du gène *PALB2*.
Méthodes. L'étude des gènes *BRCA1*, *BRCA2* et *PALB2* a été réalisée chez 3390 patients présentant une histoire personnelle évocatrice d'une prédisposition (cancer du sein avant 36 ans, cancer du sein triple négatif avant 51 ans, cancer de l'ovaire séreux de haut grade, cancer du sein masculin) ou une histoire familiale avec plusieurs cas de cancer du sein et/ou de l'ovaire. Les analyses moléculaires ont été réalisées en séquençage haut débit, par capture SureSelect QXT (Agilent) et séquençage sur NextSeq 500 (Illumina).
Résultats. Un variant pathogène du gène *BRCA1* a été identifié dans 5,3% (179/3390) des cas, un variant pathogène du gène *BRCA2* dans 4,9% (167) des cas et un variant pathogène du gène *PALB2* dans 0,7% (24) des cas. Il est à noter qu'un nombre important de variants de signification inconnue (VSI) de *PALB2* a été identifié (147), comparable au nombre de VSI de *BRCA1* et *BRCA2* (105 et 218 respectivement). Dans ce travail, nous avons par ailleurs caractérisé le type des variants pathogènes du gène *PALB2* identifiés, leur position dans le gène, mais également les histoires individuelles et familiales concernées et les caractéristiques tumorales des personnes atteintes d'un cancer du sein. Aux 24 cas index porteurs d'un variant délétère de *PALB2*, nous avons ajouté l'analyse des histoires personnelles et familiales de 34 sujets porteurs supplémentaires, correspondant à des apparentés ou des cas index étudiés avant 2015 par séquençage Sanger.
Conclusion. Cette étude montre qu'avec les critères d'indication actuels, le taux de détection de variants délétères de *PALB2* est 14 fois moins important que le taux de détection de variants délétères de *BRCA1/2*. En revanche le nombre de VSI est comparable et l'ajout de ce gène dans l'étude COVAR paraît donc nécessaire. La caractérisation du type de variants délétères, des phénotypes familiaux et tumoraux à partir d'une cohorte de 58 personnes porteuses de variants délétères de *PALB2* est utile pour définir plus précisément la population concernée par cette prédisposition, identifier des corrélations génotypes/phénotypes et permettre de mieux cibler les cas index à analyser.

PALB2 - Version finale.docx

P255 : Le syndrome d'haploinsuffisance du gène MED13L: à propos d'un cas

Auteurs :

manel Guirat (1), Ikhlas Benayed (1, 2), Nourhène Gharbi (1), Souhir Guidara (1), Fatma Abdelhedi (1), Imen Boujelben (1), Amal Bouzid (2), Carlos Bacino (3), Neila Belguith (1), Hassen Kammoun (1)

1. service de génétique médicale, Hopital Hedi Chaker, sfax, Tunisie
2. laboratoire de procédés de criblage moléculaire et cellulaire, Centre de biotechnologie de SFAX, sfax, Tunisie
3. Department of Molecular and Human Genetics, Baylor College of Medicine, Huston, Etats-Unis

Mots clefs : haploinsuufisance du gène MED13L, déficience intellectuelle, CIV, CGH-array, délétion 12q24.21-24.22

Résumé :

Le spectre phénotypique associé à une haplo insuffisance du gène MED13L est très large allant d'une malformation cardiaque isolée (transposition des gros vaisseaux) à un tableau de déficience intellectuelle syndromique incluant une dysmorphie faciale, des malformations cardiaques, des malformations neurologiques, une obésité et des traits autistiques. Une série de 26 cas d'haplo insuffisance du gène MED13L ont été décrits jusqu'à présent, la majorité sont des mutations ponctuelles mais des réarrangements chromosomiques emportant tout le gène ont été aussi rapportés dans de très rare cas.
Nous rapportons, dans ce travail, un nouveau cas d'haplo insuffisance du gène MED13L secondaire à une délétion de 1,7 Mb de la région 12q24.21-24.22 emportant tout le gène MED13L. Il s'agit d'un patient âgé de 21 ans, issu de parents consanguins et dans ces antécédents familiaux, on note la présence d'une déficience intellectuelle chez 3 cousins germains paternels et d'une cardiopathie isolée à type de communication inter-ventriculaire (CIV) chez un frère. A l'examen, il présente quelques traits dysmorphiques, une obésité tronculaire, une hypoacousie et des trais de spectre autistiques.
La délétion 12q24.21-24.22, détectée par CGH-Array, a été confirmée par FISH. Nous envisageons de compléter notre exploration génétique par l'étude des parents afin de déterminer l'origine parentale de ce CNV et de discuter la possibilité de son implication dans le phénotype que présentaient les apparentés de notre patient.
A travers ce travail, nous soulignons l'importance d'une corrélation génotype- phénotype devant ce CNV afin de mieux comprendre la variabilité d'expression de l'haplo insuffisance du gène *MED13L,* dont notre compréhension de la physiopathologie reste insuffisante à ce jour.

P256 : Regression cognitive chez des jeunes patients avec trisomie 21

Auteurs :

Clotilde MIRCHER (1), Cécile CIEUTA-WALTI (1), Isabelle MAREY (1), Anne-Sophie REBILLAT (1), Laura CRETU (1), Eliane MILENKO (2), Martine CONTE (1), Marie-Odile RETHORE (1), Franck STURTZ (1), Aimé RAVEL (1)

1. , Institut Jérôme Lejeune, Paris, France
2. Institut Jérôme Lejeune, Institut Jérôme Lejeune, PARIS, France

Mots clefs : trisomie 21 ; adolescence ; régression ; neurobiologie

Résumé :

Les adolescents et les jeunes adultes avec une trisomie 21 peuvent présenter une régression cognitive rapide avec perte de l'autonomie. Les causes de cette régression ne sont pas connues et le traitement est la plupart du temps symptomatique.
Nous présentons l'étude rétrospective d'une cohorte de patients trisomiques 21 ayant eu une régression cognitive : ces patients nés entre 1959 et 2000 ont été suivis de 1984 à aujourd'hui à l'Institut Jérôme Lejeune. Nous avons trouvé 30 patients trisomiques 21 âgé de 11 à 30 ans avec une histoire de régression, chez des patients présentant un niveau intellectuel variable (bas, moyen ou haut). Tous les patients présentaient des symptômes psychiatriques (catatonie, dépression, hallucinations, stéréotypie, etc.), une perte partielle ou totale de l'autonomie dans le soin personnel (habillage, toilette, repas et continence), une régression du langage (mutisme, voix chuchotée, etc.) et une perte des acquis scolaires.
Pour tous les patients, on retrouvait une cause de stress aigu avant la régression, pouvant être considérée comme l'événement déclenchant. Dans notre cohorte, les filles étaient majoritaires (64%). Une récupération partielle ou totale a été observée chez la moitié d'entre eux environ.
Les hypothèses neurobiologiques sont discutées ainsi que le traitement et la prévention. Une étude prospective collaborative est nécessaire pour mieux comprendre les bases génétiques et neurobiologiques de cette complication et mieux prendre en charge ces patients.

P257 : Panel de gènes de prédisposition aux cancers : retour d'expérience de l'Institut Curie, intérêt de la prise en compte de l'ensemble de l'histoire familiale

Auteurs :

Antoine DE PAUW (1), Bruno BUECHER (1), Anthony LAUGE (1), Marion GAUTHIER-VILLARS (1), Emmanuelle FOURME (2), Claire SAULE (2), Marine LE MENTEC (1), Anaïs DUPRE (1), Anne-Marie BIROT (2), Ophélie BERTRAND (2), Virginie MONCOUTIER (1), Henrique TENREIRO (1), Khadija ABIDALLAH (1), Christophe GUY (1), Jennifer CARRIERE (1), Nicolas VIELLARD (1), Christelle BERTHEMIN (1), Catherine DEHAINAULT (1), Catherine DUBOIS D'ENGHIEN (1), Camille TOUSSAINT (1), Alice FIEVET (1), Claude HOUDAYER (1, 3), Dominique STOPPA-LYONNET (1, 3), Lisa GOLMARD (1)

1. Service de génétique, Institut Curie, Paris, France
2. Service de génétique, Institut Curie, Saint-Cloud, France
3. INSERM U830 - Université Paris Descartes, Institut Curie - Sorbonne Paris Cité, Paris, France

Mots clefs : Panel de gènes, BRCA1/2, PALB2, gènes MMR, mutations incidentes, oncogénétique

Résumé :

Introduction. Le laboratoire de génétique constitutionnelle de l'Institut Curie (IC) analyse pour tous les cas index un panel de 61 gènes comprenant des gènes de prédisposition aux cancers (sein, ovaire, colon-rectum, autres cancers rares) étudiés dans un cadre diagnostique et des gènes dédiés à la recherche. L'analyse bioinformatique permet une lecture en panels de gènes spécifiques selon les indications. En concertation avec les cliniciens de l'IC, les résultats ne sont rendus que pour les gènes jugés pertinents pour le conseil génétique : variants délétères et de signification inconnue pour les gènes correspondant à l'indication, et variants délétères pour les gènes dits « actionnables », c'est-à-dire aboutissant à des recommandations de prise en charge spécifique chez les sujets porteurs de variants délétères.
Méthodes. Cette étude rétrospective porte sur 4296 patients, avec des analyses en panel de gènes réalisées entre avril 2015 et septembre 2017. Les patients ont été vus en consultation de génétique principalement à l'IC, plus rarement dans d'autres centres de luttes contre le cancer et hôpitaux français. Ces analyses ont pour indication principale une suspicion de prédisposition aux cancers du sein et de l'ovaire (79%) et aux cancers colorectaux (11%). L'analyse est réalisée par enrichissement en capture SureSelect QXT (Agilent) et séquençage sur NextGene 500 (Illumina).
Résultats. Parmi les 3390 analyses dans un contexte sein/ovaire, des variants délétères ont été identifiés sur les gènes *BRCA1* (n=179 ; 5,3%), *BRCA2* (n=167 ; 4,9%) et *PALB2* (n=24 ; 0,7%). Parmi les 453 analyses dans un contexte de cancer du côlon, des variants délétères ont été identifiés sur les gènes *MLH1* (n=5 ; 1,1%), *MSH2* (n=15 ; 3,3%) et *MSH6* (n=13 ; 2,9%). Dans le cadre des analyses de gènes actionnables ne correspondant pas à l'indication (2990 analyses « élargies »), 8 variants délétères « pseudo-incidents » ont été identifiés : 3 variants délétères des gènes *BRCA1/2* dans une indication de prédisposition au cancer colorectal, mais des antécédents familiaux de cancer du sein ont été rapportés dans 2 cas sur 3 ; 4 variants délétères des gènes *MMR* dans une indication de prédisposition sein/ovaire, mais des antécédents personnels ou familiaux de cancer appartenant au spectre du syndrome de Lynch sont présents dans tous les cas. De plus, un variant délétère du gène *MSH6* a été identifié dans une indication de polypose.
Conclusion. La présentation clinique des cas pseudo-incidents suggère un élargissement des indications d'analyse, avec une prise en compte de l'ensemble de l'histoire familiale. Ce changement de pratiques, possible puisque la plupart des laboratoires travaillent aujourd'hui en analyse de panels, permettrait de poser l'indication « élargie » dès la première consultation et d'identifier des variants délétères chez des patients ne souhaitant pas d'analyse de tous les gènes actionnables mais seulement des gènes liés à leur prédisposition.

Panel - Version finale.docx

P258 : Diagnostic génotypique inattendu chez une jeune patiente symptomatique appartenant à une famille atteinte de syndrome de Lynch

Auteurs :

Catherine VERMAUT (1), Afane BRAHIMI (2), Sophie Lejeune (3), Denis BOIDIN (1), Lauriane BRIOIS (1), Nora BOUCETTA (1), Caroline MOZEJKO (1), Marie-Pierre Buisine (1), Julie Leclerc (1)

1. Oncologie et Génétique Moléculaire, CHU Lille, Lille, France
2. Génétique Clinique, CHU Lille, Lille, France
3. Génétique Clinique "Guy Fontaine", CHU Lille, Lille, France

Mots clefs : Syndrome de Lynch, cancer sporadique, analyses somatiques

Résumé :

Nous rapportons le cas d'une patiente appartenant à une famille atteinte de syndrome Lynch liée à une mutation constitutionnelle du gène *MSH2* (NM_000251.2 : c.1022T > C, p.Leu341Pro). La patiente a présenté un cancer du caecum à l'âge de 35 ans. Le phénotype tumoral était MSI-H avec perte d'expression des protéines MSH2 et MSH6. Devant l'âge jeune de survenue du cancer et le phénotype tumoral, la patiente était considérée *a priori* comme porteuse de la mutation familiale. Contre toutes attentes, l'analyse ciblée du gène *MSH2* a révélé que la patiente n'était pas porteuse de la mutation familiale (résultat confirmé sur deux prélèvements indépendants). Ce résultat inattendu nous a amené à réaliser une analyse complète des gènes *MSH2* et *MSH6* par séquençage de deuxième génération (technologie AmpliSeq, ThermoFisher Scientific) et une recherche de grands réarrangements par MLPA (Multiplex Ligation-dependant Probe Amplification, MRC Holland), qui n'a pas mis en évidence d'anomalie délétère. Nous avons donc poursuivi les investigations par la recherche de mutations somatiques des gènes MMR sur l'ADN extrait d'un bloc paraffiné de la pièce opératoire de la patiente (séquençage de deuxième génération (technologie AmpliSeq, ThermoFisher Scientific)), et par la recherche de perte d'hétérozygotie. Nos analyses ont permis d'identifier deux événements pouvant expliquer l'inactivation biallélique du gène *MSH2* dans la tumeur et donc le résultat du phénotype tumoral : une mutation délétère du gène *MSH2* (c.2356G > T, p.(Glu786*)) et une perte d'hétérozygotie des gènes *MSH2* et *MSH6.* La recherche de la mutation *c.*2356G > T par séquençage haut débit dans l'ADN extrait du prélèvement sanguin de la patiente n'a pas retrouvé cette mutation à un taux significatif ($p < 0.001$), ce qui était en défaveur de l'existence d'une mosaïque.
En résumé, l'ensemble de ces résultats est en faveur d'une tumeur colorectale sporadique chez une patiente de 35 ans avec phénotype tumoral évocateur d'un syndrome de Lynch et permet de souligner l'apport des analyses somatiques pour l'aide au diagnostic et pour l'orientation du conseil génétique.

Assises 2018_CV (2).doc

P259 : Mise en évidence de mutations incidentes spécifiques de la présentation familiale par reséquençage ciblé en panel de gènes dans le syndrome sein-ovaire héréditaire.

Auteurs :

Pierre MACQUERE (1), Françoise BONNET (2), Delfine LAFON (2), Jennifer CHIRON (1), Bernadette GASTALDELLO (2), Gaelle GENESTE (1), Jeremy DOCHE (1), Natalie JONES (2), Emmanuelle BAROUK-SIMONET (2), Virginie BUBIEN (2), Michel LONGY (2), Nicolas SEVENET (2)

1. Laboratoire de génétique moléculaire, Institut Bergonié, France, Bordeaux, France
2. oncogénétique, Institut Bergonie, Bordeaux, France

Mots clefs : mutations incidentes, ATM, PALB2, BRCA, syndrome sein-ovaire

Résumé :

INTRODUCTION Dans les agrégations familiales de cancers du sein et de l'ovaire, une mutation des gènes majeurs de prédisposition héréditaire *BRCA* est retrouvée dans environ 15 % des cas. La technique NGS en panel de gènes a conduit à étudier dans une même indication un plus grand nombre de gènes de prédisposition aux tumeurs dont certains non impliqués a priori dans l'indication recherchée. Au décours du diagnostic moléculaire, plusieurs variants incidents peuvent être caractérisés. Le but de cette étude est de déterminer si la détection de ces variants est corrélée avec l'indication du criblage d'une part et le phénotype familial, évalué par le score de Manchester, d'autre part.
MATÉRIELS ET MÉTHODES Étude rétrospective de 2013 à 2015 sur 1296 patients consécutivement criblés à L'Institut Bergonié pour suspicion de cancer héréditaire du sein et/ou de l'ovaire. Les patients criblés pour une autre indication servaient de contrôle. Le panel de gènes criblés comprenait 25 gènes capturés (Sureselect XT Agilent) et séquencés (MiSeq(Illumina™) : *APC, ATM, BARD1, BRCA1, BRCA2, BRIP1, CDH1, CHEK2, MLH1, MRE11A, MSH2/EPCAM, MSH6, MUTYH, PALB2, PIK3CA, PMS2, PTCH1, PTCH2, PTEN, RAD50, RAD51C, STK11, SUFU* et *TP53*. Toute mutation délétère était confirmée par séquençage Sanger. Le phénotype a pu être décrit chez 917 patients au moyen du score de Manchester.
RÉSULTATS Au total, des mutations délétères de *BRCA1/2* ont été caractérisées dans 14,4% des cas, soit 187 mutations et une mutation incidente dans 6,3%, soit 81 mutations. La fréquence des mutations délétères d'*ATM* et de *PALB2* est significativement plus importante dans le groupe étudié que dans le groupe témoin, respectivement de 1,9 vs 0,4% (p=0,02) et de 1,2 vs 0,0% (p=0,01). L'odds ratio pour *ATM* est de 4,92 (IC95% = [1,16 ; 20,89]). Les mutations d'*ATM* et de *PALB2* ne sont pas strictement exclusives des mutations *BRCA1/2* puisque 4 patients mutés *BRCA* présentent une mutation d'*ATM* et 1 patient muté *BRCA* de *PALB2*. Concernant les phénotypes familiaux, un score de Manchester élevé est corrélé à une détection augmentée du taux de mutations de *BRCA* mais pas d'*ATM* ni de *PALB2*. Une association significative entre les mutations incidentes d'*ATM* et une histoire familiale de cancers du pancréas a pu être mise en évidence.
CONCLUSION Ces résultats sont cohérents avec les données publiées. Ils valident la contribution d'*ATM* et de *PALB2* dans les cancers héréditaires du sein et de l'ovaire. Il conviendrait de mener une étude sur une plus large population de cas et de contrôles afin d'obtenir une puissance accrue pour mettre en évidence une association statistiquement significative pour d'autres gènes, comme *CHEK2* ainsi que pour obtenir d'autres odds ratios afin d'évaluer les risques tumoraux de ces mutations, pour, in fine, envisager de rendre les mutations incidentes de ces gènes dans les résultats d'analyses de recherches premières.

P260 : Identification d'une triplication 2p24.3, incluant le gène MYCN, chez un enfant présentant une tumeur rénale et une agénésie rénale unilatérale

Auteurs :

Gaëlle SALAUN (1), Eric DORE (2), Eleonore EYMARD-PIERRE (3), Anca MAFTEI (4), Laetitia GOUAS (3), Florentina ISFAN (2), Fanny LAFFARGUE (5), Carole GOUMY (3), Christine FRANCANNET (5), Philippe VAGO (3), Celine PEBREL-RICHARD (3)

1. Cytogénétique Médicale, CHU Estaing, Clermont ferrand, France
2. Hémato-Oncologie Pédiatrique, CHU Estaing, Clermont-Ferrand, France
3. Cytogénétique Médicale, CHU Estaing, Clermont Ferrand, France
4. Pédiatrie, Centre Hospitalier Montluçon, Montluçon, France
5. Génétique Médicale, CHU Estaing, Clermont-Ferrand, France

Mots clefs : MYCN, néphroblastome, agénésie rénale, triplication 2p24.3

Résumé :

Près d'une centaine de patients porteurs d'une trisomie partielle 2p a été rapportée à ce jour dans la littérature. Le tableau phénotypique qui semble varier selon la taille du segment dupliqué, associe néanmoins dans la plupart des cas : retard psychomoteur, dysmorphie faciale, malformation cardiaque congénitale.
Nous rapportons le cas d'un enfant de 3 ans présentant une macrocéphalie, un strabisme et un antécédent d'hernie inguinale gauche, adressé aux urgences pédiatriques pour une hématurie macroscopique. L'échographie abdominale retrouve un rein unique latéralisé à droite présentant une tumeur encapsulée évocatrice d'un néphroblastome. L'analyse chromosomique sur puce à ADN (ACPA) 60K Agilent® révèle une **amplification interstitielle *de novo* d'environ 850kb en 2p24.3** (15,338,465-16,185,337 [Hg19]). Les logs ratios de fluorescence obtenus sont compatibles avec la présence de cette région en quatre exemplaires. Cette triplication est confirmée par la suite par QMF-PCR.
La région amplifiée comporte 4 gènes référencés OMIM : *NBAS, DDX1, MYCNOS et* ***MYCN.*** *MYCN* est un membre de la famille des proto-oncogènes MYC, jouant un rôle clé dans la prolifération et la différenciation cellulaires et donc dans l'organogenèse au cours du développement embryonnaire, en particulier des reins et du système nerveux [Dang et al, 2012]. Des dérégulations de *MYCN* ont ainsi été rapportées dans de nombreux processus tumoraux incluant : neuroblastomes [Brodeur et al., 1984 and Seeger et al., 1985], médulloblastomes [Aldosari et al., 2002], rhabdomyosarcomes [Williamson et al., 2005] et tumeurs de Wilms [Schaub et al., 2007, Williams et al., 2010, Williams et al., 2011 and Fievet et al., 2013]. Parallèlement, l'identification d'un risque accru de neuroblastome ou de tumeur de Wilms chez les patients porteurs de microduplications 2p23-p24, ont conduit plusieurs auteurs à soutenir l'hypothèse que toute anomalie cytogénétique constitutionnelle à l'origine d'une surexpression de *MYCN* était susceptible d'augmenter le risque tumoral des patients [Micale et al EJMG, 2016 ; Fievet et al, 2013].
La combinaison de ces variations constitutionnelles à d'autres facteurs, comme un deuxième évènement moléculaire (double-hit), pourrait expliquer leur forte pénétrance au sein d'une même famille mais aussi le développement tumoral aléatoire chez les patients porteurs de trisomie partielle 2p. Dans tous les cas, Micale et al rappellent la nécessité de mettre en place une surveillance adaptée des patients porteurs de ces microduplications. Rappelons qu'ici, les ratios de fluorescence obtenus à l'ACPA et les résultats obtenus par QMF-PCR sont en faveur d'une triplication de la région d'intérêt, jamais rapportée à ce jour dans la littérature et qui pourrait renforcer le caractère délétère de cette variation et donc le risque tumoral. La description de cas supplémentaires permettrait probablement d'étayer cette hypothèse.

P261 : Caractérisation d'une anomalie chromosomique rare : 45,X chez un homme

Auteurs :

Luc DRUART (1), Sophie BOURRIQUET (1), Hélène DESSUANT (1), Laure RAYMOND (2), Sylvie TAPIA (1)

1. Cytogénétique, Eurofins Biomnis, Paris, France
2. génétique moléculaire, Eurofins Biomnis, Lyon, France

Mots clefs : cytogénétique, hybridation in situ, pseudodicentrique, chromosome Y, troubles de la reproduction

Résumé :

Nous rapportons le cas d'un homme de 30 ans, 1,62m, ayant une azoospermie contrôlée sur plusieurs prélèvements. Les bilans hormonaux et l'échographie des testicules sont normaux. L'analyse du caryotype met en évidence 45 chromosomes avec un chromosome X, pas de chromosome Y, et un chromosome 14 ayant un bras court de grande taille mais dans la limite des variations polymorphes des bras courts des chromosomes acrocentriques. Par hybridation in situ il est mis en évidence un chromosome pseudodicentrique remplaçant un chromosome Y et un chromosome 14. Il est composé du bras court du chromosome Y(SHOX et SRY présents), de la région centromérique du Y apparemment inactive selon l'aspect morphologique, de la région 14p12 (NOR positif), de la région centromérique du 14 apparemment active selon l'aspect morphologique et du bras long d'un chromosome 14. Les locus testés pour les sous-régions AZFa (DDX3Y), AZFb (HSFY), AZFc (DAZ1) et la région subtélomérique du chromosome Y (SYBL1) sont absentes. Ce résultat est confirmé par biologie moléculaire (AZFa : marqueurs sY84 et sY86 absents, AZFb : marqueurs sY127 et sY134 absents, AZFc : marqueurs sY254 et sY255 absents, Marqueurs contrôles : ZFY et SRY présents). La délétion des régions AZFa, b et c est associée au syndrome SCOS (Sertoli Cell only type I) avec absence totale de cellules germinales, d'où un risque élevé de ne pas retrouver de spermatozoïdes après biopsie testiculaire, y compris par micro-TESE. Nous discutons l'intérêt d'une biopsie testiculaire dans ce cas et portons une réflexion sur les modalités de recherche de matériel du chromosome Y lorsque le résultat d'un caryotype est 45,X.

POSTER psudic(14;Y).docx

P262 : Classification des inversions du chromosome Y

Auteurs :

Luc DRUART (1), Sophie BOURRIQUET (1), Hélène DESSUANT (1), Sylvie TAPIA (1)

1. Cytogénétique, Eurofins Biomnis, Paris, France

Mots clefs : cytogénétique, hybridation in situ, inversion du chromosome Y, reproduction

Résumé :

Les inversions péricentriques du chromosome Y sont assez fréquentes et concernent 0.6 à 1 homme sur 1000. Ces inversions sont souvent familiales. Elles sont le plus souvent découvertes lors de bilan d'infertilité. Une classification de ces inversions a été proposée par Knebel et al en 2011 en quatre types. Seuls les types I, II, et III correspondent aux inversions du chromosome Y classiquement considérées comme n'étant pas associées à un risque reproductif particulier. Le type IV est plus rare et pourrait, selon les cas, avoir un risque reproductif différent. L'analyse morphologique seule ne permet pas toujours de différencier le type IV des autres types I, II ou III. Après avoir mis au point un panel de sondes différent de celui de l'étude faite par Knebel et al mais permettant la même classification, nous proposons une série de 15 cas d'inversions du chromosome Y, caractérisées par hybridation in situ. L'objectif initial était de définir la fréquence relative de chacun des types d'inversion du chromosome Y. Nous envisageons une étude collaborative afin de poursuivre cette étude et aider à mieux identifier les rares cas susceptibles d'être liés à un risque reproductif.

POSTER inversion du chromosome Y.docx

P263 : Cancer gastrique diffus héréditaire et mutation constitutionnelle du gène CDH1 : à propos d'une grande famille avec d'autres tumeurs associées.

Auteurs :

Fanny Cohen (1), Manuella Georges (1), Céline Gasnier (1), Florence Polycarpe (1), Zoé Nevière (2), Caroline Abadie (3), Philippe Denizeau (4), Louise Crivelli (4), Samuel Le Sourd (4), Vanessa Colombert (4), Brivael Gery (4), Marie Beaumont (5), Martine Blayau (5), Alice Yvard (6), Alain Lortholary (6), Marie-Noëlle Bonnet-Dupeyron (7), Pascaline Berthet (1)

1. Oncogénétique, Centre François Baclesse, Caen, France
2. Recherche Clinique, Centre François Baclesse, Caen, France
3. Oncogénétique, Institut René Gauducheau, Nantes, France
4. Oncogénétique, Centre Eugène Marquis, Rennes, France
5. Laboratoire de génétique moléculaire, CHU, Rennes, France
6. Oncogénétique, Institut Catherine de Sienne, Nantes, France
7. Oncogénétique, Centre Hospitalier, Valence, France

Mots clefs : CDH1, gastric cancer, linite gastrique, breast cancer

Résumé :

Résumé :
Madame D. est adressée en consultation de génétique en raison de ses antécédents personnels et familiaux de cancer du sein et de l'estomac. Elle a développé un carcinome lobulaire infiltrant (CLI) du sein à l'âge de 46 ans, ainsi qu'une de ses sœurs à l'âge de 45 ans. Une autre de ses sœurs est décédée des suites d'un cancer diffus de l'estomac (linite gastrique, CGD) à l'âge de 38 ans. Sa mère est décédée à 75 ans d'une linite gastrique, ainsi qu'une de ses petites-cousines.

Génétique :
Devant cette histoire familiale de cancer du sein et de CGD, une analyse génétique du gène CDH1 a été proposée à la consultante. Une mutation délétère (c.49-1G>A), présente à l'état hétérozygote, a été caractérisée et confirme sur des bases moléculaires l'existence d'un cancer gastrique diffus héréditaire dans cette famille.

Discussion :
La mutation délétère de ce gène explique donc l'histoire familiale de cancer de l'estomac et du sein.
L'identification de cette mutation a permis de proposer un test génétique pré-symptomatique pour les apparentés à risque, afin d'adapter la surveillance des personnes concernées.
A ce jour, 36 tests génétiques ciblés ont été réalisés. La mutation familiale a été mise en évidence chez 17 personnes (47%), dont 11 asymptomatiques âgés entre 20 et 64 ans. Trois des hommes porteurs ont développé un cancer de la prostate entre 55 et 68 ans, et une femme porteuse a développé un CLI à 45 ans. Deux femmes porteuses obligatoires mais qui n'ont pas pu réaliser l'analyse sont décédées d'un cancer gastrique à 38 et 75 ans. Un homme porteur obligatoire mais qui n'a pas pu réaliser l'analyse est décédé d'un cancer du côlon à 48 ans. Le troisième cas de cancer gastrique de cette famille n'est pas documenté sur le plan génétique. Deux femmes porteuses obligatoires mais qui n'ont pas réalisé l'analyse sont asymptomatiques à 82 et 70 ans.
Compte-tenu de la mortalité importante liée au CGD invasif, une chirurgie gastrique prophylactique est recommandée à partir de l'âge de 20 ans pour les personnes concernées.
Parmi les apparentés porteurs de la mutation délétère familiale, 10 (58%) ont réalisé cette chirurgie. Elle a révélé dans 1 cas (10%) 2 foyers d'adénocarcinome infiltrant à cellules indépendantes, et dans 5 cas (50%) un carcinome intra-muqueux.

L'information à la parentèle a d'abord été très difficile dans cette grande famille. La caractérisation de cette mutation a eu un retentissement psychologique très lourd. Par ailleurs, la plupart des cousins avaient été perdus de vue, mais par le biais des réseaux sociaux, les « jeunes » ont été des acteurs essentiels dans la transmission de cette information.
De plus, il est intéressant de noter les cas de cancer de la prostate et du colon chez des personnes concernées par la mutation. Si le lien entre cancer du côlon et mutation du gène CDH1 a été document, le risque n'est pas précisé. Aucun lien n'a été montré à ce jour avec le cancer de la prostate.

P264 : Maladie de Von-Hippel-Lindau et phéochromocytome : données cliniques et moléculaires de cinq cas marocains

Auteurs :

Mouna Ouhenach (1), Imane Cherkaoui Jaouad (2), fatima zahra laarabi (1), abdelaziz sefiani (3)

1. Département de Génétique Médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Maroc, Centre de Génomique Humaine, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université mohammad V Rabat, Maroc., rabat, Maroc
2. Département de Génétique Médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Maroc, Centre de Génomique Humaine, Faculté de Médecine et de Pharmacie,Université Mohammed V Rabat, Maroc, rabat, Maroc
3. Département de Génétique Médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Maroc, Centre de Génomique Humaine, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université Mohammed V Rabat, Maroc, rabat, Maroc

Mots clefs : syndrome de von Hippel-Lindau , phéochromocytome , gène VHL , corrélation phénotype génotype

Résumé :

La maladie de Von Hippel-Lindau (VHL) est un syndrome de prédisposition aux cancers, associant une variété de néoplasmes malins et bénins notamment le phéochromocytome. Il s'agit d'une maladie rare, secondaire à des mutations au niveau du gène *VHL.*

Nous rapportons ici des données cliniques et moléculaires de 5 cas marocains non apparentés avec syndrome de VHL, dont deux familles avec phéochromocytome isolé , chez qui nous avons pu identifier 4 mutations différentes au niveau du gène *VHL*.

La maladie de Von Hippel-Lindau (VHL) se transmet selon un mode autosomique dominant, avec pénétrance élevée, elle se manifeste par des kystes viscéraux, des masses bénignes avec un potentiel de transformation maligne dans des organes multiples du système .Elle est classée en 5 sous types selon l'association des différentes lésions.

La prise en charge de ce syndrome reste difficile aussi bien que la surveillance des sujets à risque. Cependant il existe une forte corrélation phénotype génotype d'où l'intérêt du diagnostic moléculaire et le conseil génétique dans cette maladie.

vhl abstract.docx

P265 : Impact de l'automatisation de la prise en charge centralisée des examens de cytogénétique conventionnelle et moléculaire (FISH) des patients avec une hémopathie maligne, expérience du LNR au Maroc à propos de 350 patients

Auteurs :

hasna hamdaoui (1, 2), Aziza Belkhayat (3), Faiza Chbel (3, 4), Meriem Ahnache (5), Fatima Chegdani (6), Karim Ouldim (3, 4), Hossain Mossafa (3)

1. Pôle cytogénétique, Laboratoire National de référence, casablanca, Maroc
2. Département de biologie moléculaire, Faculté des Sciences Ain Chock, Casablanca, Maroc
3. Pôle cytogénétique, Laboratoire National de référence, Casablanca, Maroc
4. , Université Mohammed VI des Sciences de la Santé, Casablanca, Maroc
5. , Hôpital Universitaire International Cheikh Khalifa, Casablanca, Maroc
6. , Faculté des Sciences Ain Chock, Casablanca, Maroc

Mots clefs : FISH, Hémopathie maligne, Cytogénétique conventionnel

Résumé :

Introduction : La recherche d'anomalie cytogénétique conventionnelle et la FISH (hybridation in situ fluorescente) font partie intégrante de la prise en charge médicale des patients avec une hémopathie acquise. La mise en évidence des anomalies chromosomiques stéréotypées permet de déterminer des facteurs diagnostique et de pronostique indépendants des autres facteurs de risque classiques. La FISH est une technique complémentaire très sensible et applicable en interphase et en métaphases, permet en outre de confirmer des anomalies suspectées par le caryotype et de préciser les points de cassure chromosomiques, de déterminer l'origine des marqueurs, dm, hsr, de détecter des aneuploïdies, de confirmer les micro-délétions et des duplications.
Patients et Méthodes : Depuis Juin 2016, le Laboratoire National de Référence (LNR) s'est équipé par un système automatisé de la technique jusqu'à l'analyse d'image approuvés FDA (USA). Ces installations ont permis au LNR de prendre en charge uniquement par une seule personne en technique 595 dossiers des patients au diagnostic, caryotype et FISH. Les pathologies qui ont été pris en charges sont LMC (60 cas), LAM (105 cas), LAL (80 cas), LLC (48 cas), Myélome multiple avec un tri des plasmocytes CD138+ et le contrôle de la pureté de tri (110 cas), SMD (73 cas), LNH (29 cas) et Myélome (90 cas).
Résultats : Un taux de succès de 99% a été obtenu pour la cytogénétique conventionnelle, et de 100% pour la FISH avec un taux de détection d'anomalies chromosomiques de toute pathologie confondue, 67% en cytogénétique conventionnelle et de 80%.pour la FISH. Les délais moyens de rendu des résultats des caryotypes d'hémopathie myéloïde est de 3,7 jours et pour les hémopathies lymphoïde est de 5 jours. Les délais de rendu de FISH est de 48h toutes indication confondu.
Discussion : La mise en place de cette plateforme full automatisée pour la première fois au Maroc a permis aux patients marocain ; avec un coût optimal : de réaliser leur analyses cytogénétique et FISH sur place. De plus le rendu rapide des résultats a permis aux cliniciens au Maroc de prendre leur décision thérapeutique dans un délai très court avec un impact positif considérable pour la gestion thérapeutique et l'hospitalisation des patients. Cette plateforme a une capacité de 10.000 examens de cytogénétique et 20.000 FISH par an cela permet de répondre à l'ensemble des besoins du caryotype et de la FISH au Maroc.
Conclusion : L'automatisation accompagnée par une formation adéquate de l'équipe technique permet d'optimiser et de fiabiliser à moins le coût des différentes étapes techniques et de lecture en cytogénétique et en FISH. Le rendu rapide des résultats facilite la prise des décisions thérapeutiques adaptées dans un minimum du temps par les cliniciens.

P266 : Identification d'une mutation BRCA2 dans une famille mutée BRCA1 d'origine marocaine

Auteurs :

Lyse RUAUD (1), Alexandre DAMETTE (2), Céline POPULAIRE-VENTRON (2), Nadia BOUTRY-KRYZA (3), Adrien BUISSON (3), Fatima LAARABI (4), Loïc CHAIGNEAU (5), Marie-Agnès COLLONGE-RAME (2)

1. Centre de Génétique Humaine, CHRU, Université de Franche-Comté, Besançon, France
2. UF d'Oncogénétique, Service Génétique Biologique, CHRU Besançon, Besançon, France
3. Laboratoire de Génétique Constitutionnelle des cancers fréquents, Centre de lutte contre le cancer Léon Bérard, Lyon, France
4. Département de Génétique Médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Maroc
5. Service d'Oncologie Médicale, CHRU Besançon, Besançon, France

Mots clefs : BRCA1, BRCA2, phénocopie, cancer du sein familial

Résumé :

Les mutations des gènes *BRCA* sont identifiées dans 5 à 10% des formes familiales de cancer du sein et de l'ovaire. Lorsqu'une mutation est retrouvée, la démarche consiste à rechercher la mutation familiale chez les apparentés symptomatiques et asymptomatiques. Les apparentés symptomatiques qui ne sont pas porteurs de la mutation familiale sont dit présenter une phénocopie et les analyses génétiques ne sont pas poursuivies dans la majorité des cas. Nous rapportons le cas d'une patiente ayant présenté, à l'âge de 39 ans, un carcinome canalaire infiltrant de grade 2, RH+, HER2- du sein gauche. Elle est issue d'une fratrie de 7 (5 filles et 2 garçons). Une de ses sœurs a présenté un cancer du sein à 46 ans avec mutation *BRCA1* p.(Asp1151Glufs*4) identifiée au Maroc. Leur père, décédé, avait présenté un cancer du sein à 70 ans, sans autre antécédent dans cette branche. Leur mère, décédée, avait présenté un cancer du sein à 40 ans ainsi qu'une de ses sœurs et une nièce à 38-40 ans. Un test prédictif à la recherche de la mutation familiale a été réalisé chez notre patiente et n'a pas retrouvé la mutation de *BRCA1* identifiée chez sa sœur. En raison de l'histoire familiale et de l'absence du témoin positif familial au laboratoire, nous avons décidé de réaliser un séquençage complet des gènes *BRCA*. Une mutation délétère de *BRCA2* p.(Ser2143*) a été identifiée et confirmée sur deux prélèvements. L'enquête familiale est en cours pour identifier l'origine parentale de chaque mutation et établir la ségrégation familiale. Ce cas clinique montre l'intérêt de poursuivre les analyses dans les gènes de prédisposition au cancer du sein même en l'absence d'identification de la mutation familiale quand l'histoire clinique est évocatrice.

P267 : Analyse NGS en panel de gènes pour la prédisposition au cancer du sein et de l'ovaire : panorama des résultats originaux et leur conséquence sur la prescription des tests génétiques constitutionnels

Auteurs :

Rabia BENKORTEBI (1), Caroline DUROS (1), Odile COHEN-HAGUENAUER (1, 2)

1. Unité fonctionnelle d'Oncogénétique, Hôpital Saint-Louis, PARIS, France
2. Service d'Oncologie Médicale, Pôle HI-3RO, Faculté de Médecine et Université Paris 7-Diderot, PARIS, France

Mots clefs : Prédisposition héréditaire aux cancers du sein et ovaires, Panel multigènes sein NGS, Méta-analyse quantitative et qualitative des mutations dont BRCA PALB2 CDH1 PTEN TP53 RAD51C RAD51D & MMR, Niveau de risque de cancer

Résumé :

Contexte : l'oncogénétique a pour objectif de caractériser une sous-population à haut risque de cancers à un âge précoce afin de préconiser les recommandations pour un parcours optimisé de suivi. S'agissant de la prédisposition héréditaire aux cancers du sein et de l'ovaire (HBOC), des critères ont été retenus pour proposer un test génétique constitutionnel (www.ecancer.fr). La recherche de mutation sur les gènes *BRCA1/2* aboutit à l'identification d'une mutation délétère causale dans moins de 10% des cas. Les progrès du séquençage à haut débit permettent de rechercher des mutations sur plusieurs gènes susceptibles d'intervenir dans le syndrome HBOC. Les résultats originaux ont été analysés, afin d'évaluer l'impact de ces nouveaux gènes.
Méthodologie : l'ensemble des données des études originales publiées jusqu'en juillet 2017, portant sur les tests constitutionnels en panel multigènes dans les familles HBOC ont été rassemblées et analysées, en tenant compte du gène testé et de la méthodologie mise en oeuvre. Dans une minorité de cas, des études de co-ségrégation et/ou calculs de risque ont été réalisés.
Résultats : parmi les 121945 personnes testées, 9716 mutations délétères ont été identifiées soit 8% au total et sur chacun des gènes suivants : *BRCA1* (2489 ; 2%), *BRCA2* (2093 ; 1,7%), *ATM* (968 ; 0,8%), *CHEK2* (2574 ; 2,1%), *PALB2* (916 ; 0,7%) ; avec une fréquence moindre pour : *APC* (25 ; 0,02%), *BARD1* (200 ; 0,16%), *BRIP1* (289 ; 0,24%), *CDH1* (69 ; 0,05%), NF1 (61 ; 0,05%), *PTEN* (85 ; 0,07%), *RAD50* (111 ; 0,09%), *RAD51C* (145 ; 0,12%), *RAD51D* (63 ; 0,05%), *TP53* (240 ; 0,2%) ; les gènes *MMR* (Lynch Sd) sont régulièrement retrouvés : *MLH1* (99 ; 0,085%), *MSH2* (113 ; 0,09%), *MSH6* (195 ; 0,17%), *PMS2* (186 ; 0,16%). En dehors de *BRCA1/2*, un sur-risque de cancer du sein est démontré pour le gène *PALB2*, avec un niveau comparable à *BRCA2*. Chez les cas index de familles HBOC, la fréquence des mutations retrouvées est de 8,5% (511/5966) ; et de 6,3% (279/4393) dans la sous-population déjà négative pour les gènes *BRCA*.
Perspectives : les données rassemblées représentent un panorama des mutations délétères identifiées sur un large effectif, supérieur à 100000 personnes, cependant hétérogènes. La première conclusion concerne la fréquence des mutations qui n'est pas sensiblement différente, selon que l'on prenne ou pas l'histoire familiale en considération. Cette observation est susceptible d'avoir un impact sur l'indication des tests génétiques constitutionnels chez les personnes affectées par un cancer du sein. Cette analyse a constitué un préalable aux recommandations du Groupe Génétique et Cancers, rapportées par Moretta-Serra et al (*ibid*). Au fur et à mesure des progrès de nos connaissances (projet TUMOSPEC), les dispositions de prise en charge seront modulées selon le gène muté. Enfin, selon les recommandations de la HAS 2014, en l'absence de mutation identifiée, le risque de cancer du sein est évalué sur la base de l'histoire familiale, qui prévaut.

Abstract Assises_MetaPanel_OCH_20171008.pdf

P268 : Dépistage sanguin des marqueurs moléculaires compagnons par séquençage ciblé haut débit pour l'amélioration de la prise en charge et du suivi du CBPNC avancé, une analyse retrospective.

Auteurs :

Alexandra Lespagnol (1), Amyra Aliouat (1), Florent Denoual (1), Diane Duroux (1), Guillaume Bouzille (2), Helena Gourdet (1), Frederique Guenot (1), Gaelle Moron (1), Solenne Daubresse (3), Sylvie Huet (3), Valérie Lerouge (3), Nathalie Loinsard (3), Melanie Prigent (3), Ange-Marie Robert (3), Karen Rousseau (3), Agnes Gazzola (4), Jean Mosser (1), Romain Corre (3), Hervé Lena (3), Marie De Tayrac (5)

1. Service de Génetique Moleculaire et Genomique Medicale, CHU Rennes, Rennes, France
2. Service Information Medicale, CHU Rennes, Rennes, France
3. Service de Pneumologie, CHU Rennes, Rennes, France
4. Direction de la recherche clinique, CHU Rennes, Rennes, France
5. Service de Génetique Moleculaire et Genomique Medicale, CHU Rennes, R, France

Mots clefs : adn circulant, ngs, monitoring, thérapie ciblée, médecine personnalisée

Résumé :

Le cancer du poumon non à petites cellules (CBPNC) est devenu la principale cause de décès lié au cancer dans les pays occidentaux. L'analyse moléculaire de ces cancers, nous permet aujourd'hui de mieux les prendre en charge. Ainsi, pour 10 à 15% des patients porteurs d'une mutation du gène *EGFR,* des inhibiteurs de 1ere, 2eme et 3eme génération ciblant le domaine tyrosine kinase de l'EGFR (EGFR-TKI) sont maintenant disponibles. La survie sans progression est alors augmentée à 12 mois et la survie globale atteint 24 à 27 mois. Malgré une réponse initiale au traitement par EGFR-TKI, l'efficacité clinique de ces inhibiteurs de l'EGFR est de courte durée en raison d'une résistance secondaire acquise. Environ 60% des cas de résistance acquise aux EGFR-TKI de 1ere et 2eme génération, résulte de l'apparition de modifications secondaires et en particulier de l'acquisition d'une seconde mutation, la mutation T790M sur le gène *EGFR*. Un des mécanismes de résistance aux EGFR-TKI de 3eme génération, est l'acquisition d'une troisième mutation, la mutation C797S. Ces avancées nécessitent d'adapter le schéma thérapeutique à l'évolution moléculaire de la tumeur. Mais ce suivi implique la disponibilité d'échantillons tumoraux tout au long de la prise en charge du patient et n'est possible que si l'état du patient le permet. Actuellement, les prélèvements tumoraux utilisés pour le diagnostic moléculaire sont obtenus de façon invasive, engendrant un risque de complications non négligeable telles que saignement, pneumothorax et douleur. Dans ce contexte, proposer des alternatives non-invasives pour le suivi moléculaire des patients devient donc incontournable. Afin d'améliorer les stratégies thérapeutiques des EGFR-TKI et de permettre la surveillance moléculaire longitudinale des CBPNC, nous avons développé une stratégie de séquençage haut débit (NGS) basée sur l'amplification et adapté pour l'analyse moléculaire des biopsies solides mais également des biopsies liquides. Un panel custom de 150 amplicons couvrant 20kb de séquence et couvrant les régions de 30 gènes impliqués dans l'oncogenèse et les mécanismes de résistances aux thérapies ciblées, a été développé par le laboratoire. Afin d'évaluer la performance de notre test, nous avons réalisé une analyse moléculaire comparative des biopsies solides et des biopsies liquides au diagnostic initial de la maladie et un suivi sur biopsies liquides sur plusieurs prélèvements. Nous avons observé une très bonne concordance entre la biopsie solide et la biopsie liquide (sensibilité : 0,93, spécificité : 1) et nous avons pu évaluer la valeur pronostique de la quantité d'ADN circulant extraite à partir des biopsies liquides et l'évolution de la maladie. Le test mis en place au laboratoire permet aujourd'hui une analyse moléculaire non-invasive pour nos patients et adapté à l'évolution moléculaire de la tumeur, le NGS permettant d'analyser en parallèle plusieurs mécanismes de résistance sur le même échantillon.

P269 : Les mélanomes chez le chien comme modèles spontanés pour la génétique et la thérapie des mélanomes humains non UV-dépendants

Auteurs :

Aline Primot (1), Christophe Hitte (1), Edouard Cadieu (1), Clotilde de Brito (2), Jessica Alfoldi (3), Jérôme Abadie (4), Marc Gillard (1), Béatrice Vergier (5), Thomas Derrien (1), Patrick Devauchelle (6), Benoit Hedan (7), Frédérique Degorce-Rubiales (8), Laëtitia Lagoutte (7), Marie-Annick Lagadic (9), Elodie Boureaux (10), Jegou Jean-Pierre (11), Nadine BOTHEREL (12), Marie-Dominique Galibert (13), Kerstin Lindblad-Toh (3), Catherine André (2)

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. Broad Institute, MIT and Harvard, Cambridge, Etats-Unis
4. LUNAM University, ONIRIS, AMaROC, Ecole Nationale Vétérinaire, Agroalimentaire et de l'Alimentation Nantes Atlantique, Nantes, France
5. Service de Pathologie, CHU Bordeaux et Université Bordeaux Segalen, Bordeaux, France
6. , MICEN VET, Créteil, France
7. Equipe Génétique du Chien, UMR6290/CNRS/Université de Rennes 1, Rennes, France
8. , Laboratoire d'Anatomie Pathologique Vétérinaire du Sud-Ouest LAPVSO, Toulouse, France
9. , Laboratoires IDEXX, Saint Denis, France
10. Service d'ophtalmologie, CHU de Rennes, Rennes, France
11. Opht@nimal, Clinique vétérinaire Opht@nimal, Paris, France
12. Equipe Génétique du Chien, UMR6290/CNRS/Université de Rennes 1, RENNES, France
13. Equipe "Expression des gènes et Oncogenèse" - IGDR, UMR6290/CNRS/Université de Rennes 1, Rennes, France

Mots clefs : Mélanomes, Modèle chien, Exome, Essais cliniques

Résumé :

Le chien développe spontanément des mélanomes buccaux, cutanés, unguéaux et oculaires, avec de fortes spécificités raciales, et constitue un modèle naturel qui permet d'explorer les bases génétiques et d'envisager des essais cliniques chez le chien, pour la médecine humaine et vétérinaire. Une première analyse épidémiologique de 2350 tumeurs mélanocytaires canines a permis de définir les correspondances histologiques entre les sous-types de mélanomes chez le chien et l'homme et d'identifier des premières mutations somatiques dans les mélanomes muqueux (Gillard *et al.* 2014). Plus récemment, nous avons analysé 402 cas de mélanomes canins (avec 3 ans de suivi) sur les plans épidémiologique et histopathologique en regard de leur survie, proposant ainsi une valeur pronostique et une grille de lecture d'histopathologie comparable à celle utilisée chez l'Homme. Des analyses par séquençage de 70 exomes de mélanomes muqueux appariés (tumeur/sang) et de 10 CGH de mélanomes cutanés, muqueux et uvéal ont été réalisés sur 3 races les plus à risque pour les mélanomes muqueux et cutanés. Ce travail a permis de montrer, par le séquençage d'exome de 70 cas de mélanomes muqueux, une signature mutationnelle non UV dépendante, un taux global de mutations équivalent à l'Homme et une cinquantaine de gènes mutés. Parmi ces gènes, on trouve des gènes suppresseurs de tumeur, comme TP53 et PTEN, et des oncogènes comme NRAS, ainsi que de nouveaux gènes candidats. Nous identifions les mêmes *hot spots* de mutations que chez l'Homme pour NRAS et des mutations mutuellement exclusives des gènes NRAS, NF1, TP53 qui permettent de proposer une classification moléculaire, à l'instar de celle proposée chez l'Homme. Nous n'avons pas mis en évidence de mutation de BRAF, ce qui est en accord avec le caractère non lié aux UV des mélanomes buccaux canins. En complément, des analyses CGH d'une partie des échantillons ont permis d'identifier des altérations chromosomiques importantes sur les chromosomes 30 et 10 canins (gains, pertes), pointant des gènes connus pour être impliqués dans les mélanomes humains. Nous avons mené en parallèle une étude spécifique sur les mélanomes uvéaux et avons collecté en rétrospectif et prospectif 100 cas en FFPE ainsi que 20 cas en RNAlater et sang ; et 7 cas ont pu être mis en culture. Nous avons dans un premier temps réalisé aune analyse comparative Homme-chien de ces mélanomes sur les plans clinique, épidémiologique et histologique. 7 cas pour lesquels nous disposons du sang, de tumeur et de la lignée cellulaire sont en cours de séquençage (exome). Ces résultats obtenus, ou en cours, permettent d'identifier des cibles thérapeutiques pour les 3 types de mélanomes muqueux, cutanés et uvéaux, ciblant des voies oncogéniques pertinentes chez l'Homme afin de cribler ou tester de nouvelles molécules *in vitro* dans les lignées cellulaires et *in vivo*, lors d'essais cliniques «First in dogs» chez le chien, pour un bénéfice mutuel en médecine humaine et vétérinaire.

2017_10_Andre_Assises_Melanome.docx

P270 : Biomarqueurs théranostiques en oncologie : place des tests in vitro dans l'évaluation des variants somatiques identifiés au voisinage de l'exon 14 du proto-oncogène MET chez des patients atteints d'un cancer du poumon non à petites cellules

Auteurs :

Gerald LE GAC (1), Sandrine Autret (2), Chandran KA (2), Isabelle GOURLAOUEN (2), Odile RAGUENES (2), Brigitte FERCOT (2), Pierre ALEMANY (2), Isabelle QUINTIN-ROUE (3), Paul GUEGUEN (2), Claude FEREC (2)

1. Inserm U1078, Université Bretagne Loire – Université de Bretagne Occidentale, IBSAM, CHRU de Brest - Laboratoire de Génétique Moléculaire, Laboratoire de Génétique Moléculaire des Groupes Sanguins, Etablissement Français du Sang - Bretagne, BREST, France
2. Inserm U1078, Université Bretagne Loire – Université de Bretagne Occidentale, IBSAM, CHRU de Brest - Laboratoire de Génétique Moléculaire, Etablissement Français du Sang - Bretagne, Brest, France
3. Service d'Anatomopathologie, CHRU de Brest , Brest, France

Mots clefs : Biomarqueurs Théranostiques, Cancer du poumon, MET, Epissage

Résumé :

Introduction : Des variations génétiques susceptibles de provoquer l'exclusion de l'exon 14 de l'ARNm du gène *MET* sont rapportées dans les tissus tumoraux de 3 à 6% des patients diagnostiqués avec un cancer du poumon non à petites cellules. La perte de l'exon 14 provoque la production d'une forme plus stable du récepteur membranaire MET. Cet isoforme exerce une fonction majeure dans les processus de prolifération tumoral, d'invasion et d'angiogenèse. Il fait l'objet d'une thérapie ciblée qui repose sur l'utilisation de molécules inhibitrices de l'activité tyrosine kinase. En France, le crizotinib est actuellement proposé dans le cadre du programme AcSé (Accès Sécurisé à des thérapies ciblées innovantes) porté par l'INCa et l'ANSM. L'inclusion des patients qui présentent un variant dont le caractère activateur ou la sensibilité au crizotinib ne sont pas clairement établis dépend d'analyses *in silico*. Les algorithmes employés permettent une évaluation relativement fiable des variants situés à l'intérieur des sites accepteurs et donneurs d'épissage. L'interprétation est plus difficile, voire impossible, pour des variants localisés en dehors des sites consensus.

Objectif : Nous avons posé la question de la fiabilité des prédictions informatiques face à l'utilisation de deux tests *in vitro* : RT-PCR fluorescente à partir des ARNm extraits de tissus tumoraux inclus en paraffine et/ou mini-gène.

Résultats : Notre évaluation a porté sur 5 variants de la jonction intron 13/exon 14, 5 de la jonction exon 14/intron 14 et trois délétions de l'intron 13 (intervalle : c.2942-46_2942-16). Sur 10 tissus tumoraux disponibles, 8 ont permis d'extraire suffisamment d'ARN pour permettre la détection de fragments de PCR allants jusqu'à 215 bp (exon 14 inclus ; 71 bp en cas d'exclusion). Le mini-gène a permis de confirmer l'exclusion de l'exon 14 de *MET* dans tous les cas. Le résultat était conforme aux observations réalisées à partir de biopsies pour les 5 variants pour lesquels une évaluation était possible avec les deux techniques. Ces 5 variants étaient tous localisés aux jonctions intron/exon. Le mini-gène a permis de vérifier l'impact des trois délétions de l'intron 13. Les effets de ces trois délétions ne pouvaient être déterminés *in silico* (en dehors d'une hypothétique évaluation des points de branchement) car elles étaient toutes localisées en dehors de la séquence du site accepteur d'épissage de l'intron 13 (délimité par les positions c.2942-12 et c.2944).
Conclusions : Nous confirmons l'effet fonctionnel des 13 variants testés. Nous montrons cependant que le recours à des analyses *in vitro* à partir des tissus tumoraux de patients atteints d'un cancer du poumon et, le cas échéant, à partir d'un mini-gène est envisageable et qu'il peut s'inscrire dans un délai compatible avec une prise de décision thérapeutique (15 jours). Ces tests *in vitro* devraient plus particulièrement s'imposer pour l'analyse des nombreuses délétions décrites dans l'intron 13 de *MET*.

P271 : Caractérisation génétique des lymphomes canins et intérêt pour la thérapie ciblée des lymphomes humains

Auteurs :

Ronan Ulvé (1), Valentin Wucher (2), Mélanie Rault (1), Mathieu Bahin (3), Laëtitia Lagoutte (2), Jérôme Abadie (4), Frédérique Nguyen (5), Clotilde de Brito (6), Nadine BOTHEREL (7), Edouard Cadieu (1), Catherine Thieblemont (8), Christophe Hitte (1), Laurence Cornevin (9), Florian Cabillic (9), Thierry Guillaudeux (10), Arnaud Le Goff (11), Thomas Derrien (1), Benoit Hedan (2), Catherine André (6)

1. Equipe "Génétique du chien" - IGDR, UMR6290/CNRS/Université de Rennes 1, Rennes, France
2. Equipe Génétique du Chien, UMR6290/CNRS/Université de Rennes 1, Rennes, France
3. Equipe Génétique du Chien, UMR6290/CNRS/Université de Rennes 1, rennes, France
4. LUNAM University, ONIRIS, AMaROC, Ecole Nationale Vétérinaire, Agroalimentaire et de l'Alimentation Nantes Atlantique, Nantes, France
5. ONIRIS, AMaROC, Ecole Nationale Vétérinaire, Agroalimentaire et de l'Alimentation Nantes Atlantique, Nantes, France
6. Equipe , UMR6290/CNRS/Université de Rennes 1, Rennes, France
7. Equipe Génétique du Chien, UMR6290/CNRS/Université de Rennes 1, RENNES, France
8. APHP , Hopital Saint-Louis, Hemato-oncologie , Université Paris Diderot, Sorbonne Paris Cité, Paris, France
9. Laboratoire de cytogénétique et biologie cellulaire, CHU de Rennes, INSERM, INRA, Univ Rennes 1, Univ Bretagne Loire, Nutrition Metabolisms and Cancer, Rennes, France
10. UMS 3480 CNRS/US018 INSERM Biosit, Laboratoire commun Oncotrial, Rennes, France
11. Unité de pharmacologie préclinique, BIOTRIAL Pharmacology, Rennes, France

Mots clefs : lymhomes, modèle, chien, translocations, mutations, thérapie ciblée

Résumé :

Les lymphomes sont parmi les cancers les plus fréquents chez l'homme et le chien et présentent dans ces 2 espèces de fortes homologies cliniques, histologiques et de réponses aux traitements. L'objectif de notre étude est de déterminer les bases génétiques de ces cancers spontanés chez le chien afin de transposer en médecine humaine les connaissances acquises chez le chien.
Nous avons découvert des altérations somatiques communes à l'homme et au chien, dont des mutations et des translocations chromosomiques impliquées dans la lymphomagenèse chez l'homme. En effet, grâce à la Biobanque Nationale Cani-DNA, crée au laboratoire (dog-genetics.genouest.org) et par différentes approches NGS (RNA-Seq et séquençage ciblé) réalisées chez 28 chiens atteints de lymphomes, nous avons identifié 246 variations du nombre de copies (CNV) et 24 mutations somatiques, parmi lesquelles TP53, POT1 et PTEN. Ces résultats ont mis en évidence des mutations majeures (62%) partagées entre les lymphomes de l'homme et du chien. De plus, nous avons identifié et caractérisé des fusions de gènes entre des gènes d'immunoglobulines et de cyclines D. Nous montrons que ces fusions impliquent les mêmes gènes, les mêmes points de cassure et ont les mêmes conséquences sur la surexpression des cyclines D que chez l'homme. Ces évènements étant associés chez l'homme à des lymphomes agressifs ou résistants aux traitements, ces modèles de chiens spontanément atteints représentent un intérêt majeur pour envisager le criblage et le développement de nouvelles thérapies ciblées en amont de l'homme. Pour se faire, nous avons mis en place des cultures primaires de lymphomes canins et des lignées caractérisées par NGS pour réaliser des essais de molécules *in vitro*. Nous avons exploré l'effet des inhibiteurs de cycline D et avons montré une excellente concordance entre la sensibilité au médicament et l'état de réarrangement de l'IG-cycline D des lignées cellulaires analysées.
Cette étape préliminaire permet d'envisager des essais cliniques vétérinaires avec des chiens de propriétaire, atteints de lymphomes. Cette démarche s'intègre dans le concept « One Health » dont l'objectif est de faire bénéficier ces recherches à la médecine humaine et vétérinaire.

2017_10_Andre_Assises_Lymphome.docx

P272 : Modèle spontané de sarcome histiocytaire chez le chien: mise en évidence de mutations somatiques, cible thérapeutique pour les sarcomes histiocytaires humains

Auteurs :

Benoit Hedan (1), Mélanie Rault (2), Ronan Ulvé (2), Edouard Cadieu (2), Clotilde de Brito (3), Anne-Sophie GUILLORY (4), Jean-François Emile (5), Patrick Devauchelle (6), Jérôme Abadie (7), Olivier Albaric (8), Laëtitia Lagoutte (1), Nadine BOTHEREL (9), Thomas Derrien (2), Christophe Hitte (2), Laura Bachelot (10), David Gillot (11), Jean Donadieu (12), Catherine André (3)

1. Equipe Génétique du Chien, UMR6290/CNRS/Université de Rennes 1, Rennes, France
2. Equipe "Génétique du chien" - IGDR, UMR6290/CNRS/Université de Rennes 1, Rennes, France
3. Equipe , UMR6290/CNRS/Université de Rennes 1, Rennes, France
4. Equipe , UMR6290/CNRS/Université de Rennes 1, RENNES, France
5. Service d'histopathologie, Hôpital Ambroise Paré, Paris, France
6. , MICEN VET, Créteil, France
7. LUNAM University, ONIRIS, AMaROC, Ecole Nationale Vétérinaire, Agroalimentaire et de l'Alimentation Nantes Atlantique, Nantes, France
8. Service de Pathologie, Ecole Nationale Vétérinaire, Agroalimentaire et de l'Alimentation Nantes Atlantique, Nantes, France
9. Equipe Génétique du Chien, UMR6290/CNRS/Université de Rennes 1, RENNES, France
10. Equipe "Expression des Gènes et Oncogenese", UMR6290/CNRS/Université de Rennes 1, Rennes, France
11. Equipe "Expression Génétique de Développement", UMR6290/CNRS/Université de Rennes 1, Rennes, France
12. Service d'hémato-oncologie pédiatrique, Hôpital Trousseau, Paris, France

Mots clefs : Sarcome histiocytaire, MAPkinase, modèle , chien, thérapie ciblée

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, constitue un modèle naturel exceptionnel pour étudier ces cancers sur les plans moléculaire et thérapeutique. Ainsi, le bouvier bernois, avec sa forte prédisposition pour le sarcome histiocytaire (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, crée au laboratoire (dog-genetics.genouest.org).
En parallèle de la recherche de locus de prédisposition au sarcome histiocytaire, l'analyse du transcriptome par RNAseq a permis d'identifier des mutations somatiques récurrentes et exclusives, dans plusieurs gènes de la voie des MAPkinases. Nous avons montré que l'un de ces gènes présente des mutations somatiques dans 50% des chiens atteints (analyse sur 100 chiens atteints), aux mêmes hotspots de mutation que ceux répertoriés dans des cancers hématopoïétiques humains et nous avons démontré le caractère activateur de ces mutations. Pour en explorer l'implication fonctionnelle et tester des médicaments ciblant la voie oncogénique, nous avons développé 8 lignées de SH canines. Ces lignées, toutes mutées pour ce gène présentent bien une surexpression de la voie RAS, et ont donc été utilisées pour tester des molécules inhibitrices de la voie MAPkinase, utilisées en oncologie humaine.
Grâce au registre national des histiocytoses, nous avons pu rechercher ces mutations somatiques dans 24 cas humains et identifier 4 patients présentant une mutation orthologue à celle observée dans le sarcome histiocytaire canin. Ces résultats permettent de transposer les données canines à la médecine humaine et, nous l'espérons, de proposer des essais thérapeutiques chez des chiens atteints de sarcomes histiocytaires en amont d'essais chez les patients, pour sélectionner la thérapie la plus adaptée pour ce cancer rare mais agressif, ceci au bénéfice de la médecine humaine et vétérinaire.

2017_10_Andre_Assises_sarcome.docx

P273 : Apport du NGS à l'analyse moléculaire des tumeurs endocrines et rénales

Auteurs :

Sophie GIRAUD (1), Céline AUBOIROUX (1), Béatrice CHAMBE (1), Stéphanie DUPASQUIER (1), Caroline ABADIE (2), Laurence FAIVRE-OLIVIER (3), Marie-Agnès COLLONGE-RAME (4), Sophie LEJEUNE (5), Stéphane RICHARD (6), Claire BARDEL-DANJEAN (7), Alain CALENDER (1)

1. Service de Génétique, Hospices Civils de Lyon, Groupement Hospitalier Est, BRON, France
2. Département d'Oncologie Médicale, ICO René Gauducheau, Saint Herblain, France
3. Centre de génétique, CHU de Dijon - Complexe du Bocage - Université de Bourgogne, Dijon, France
4. Service de Génétique Médicale, CHU de Besançon - St Jacques, Besançon, France
5. Clinique de Génétique médicale, CHU de Lille, Hôpital Jeanne de Flandre, LILLE, France
6. Centre de référence PREDIR, APHP, Hôpital Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France
7. UMR 5558, LBBE, Service de Biostatistique et plateforme de séquençage NGS, CNRS, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

Mots clefs : NGS, cancer du rein, NEM, paragangliome

Résumé :

Objectif: le nombre de gènes de prédisposition aux tumeurs endocrines et aux tumeurs rénales est en constante augmentation avec un over lap des gènes impliqués entre ces différentes pathologies. Avec l'apport du NGS (Next generation Sequencing) nous avons donc souhaité développer un panel commun pour l'analyse génétique constitutionnelle des tumeurs rénales, des néoplasies endocriniennes multiples et des paragangliomes.
Méthodes: nous avons designé les séquences cibles concernant toutes les régions exoniques et les régions introniques adjacentes de 33 gènes impliqués dans ces différentes pathologies avec le logiciel Sure design (Agilent technologies). En ce qui concerne le cancer du rein nous avons choisi 5 gènes définis par le groupe PREDIR comme des gènes à utiliser pour le diagnostic et 15 gènes dits « de recherche » pour évaluer la fréquence de leur implication. Nous avons utilisé le procédé d'enrichissement SureSelect^{QXT} for Illumina Multiplexed et utilisé un séquenceur NextSeq 500. Nous avons analysé nos données à l'aide de deux logiciels NextGENe (SoftGenetics) et Papillyon développé par l'institution. Nous avons d'abord testé notre méthode en analysant 35 ADN porteurs de variants déjà identifiés puis analysés 339 patients: 60 pour un paragangliome, 9 pour une NEM2, 128 pour une suspicion de NEM1, et 142 pour une prédisposition au cancer du rein. Les variants retrouvés ont été vérifiés par séquençage Sanger. Nous avons systématiquement recherché des grands réarrangements des gènes *MEN1, CDC73, AIP, CDKN1B, VHL, SDHB, SDHC* et *SDHD* par MLPA.
Résultats: tous les 35 variants connus ont bien été reconnus par cette nouvelle technique, y compris 6 grands réarrangements. Nous avons pu identifier 50 patients présentant un variant de classe 3 à 5 dans les gènes analysés: 12 variants chez des patients avec un paragangliome, 21 variants chez les patients avec une tumeur endocrine et 17 chez les patients suspects d'une prédisposition au cancer du rein dont 8 dans les gènes « diagnostic » et 9 dans des gènes « de recherche ». A noter que trois patients sont porteurs d'un réarrangement détecté par NGS et MLPA.
Conclusions: le NGS s'avère être une méthode sensible et rapide pour le diagnostic génétique des tumeurs endocrines et rénales, que ce soit pour la détection de mutation ponctuelle ou de grand réarrangement. Il nous a permis d'intégrer facilement l'analyse de nouveaux gènes, de mutualiser les analyses, de rendre un résultat d'emblée plus complet pour ces pathologies et après une année de mise au point de commencer à diminuer nos délais de rendu. La poursuite du travail sur le cancer du rein devrait nous amenez à préciser les indications d'analyse.
L'interprétation des nombreux variants identifiés reste un problème majeur, nécessitant des travaux collaboratifs entre laboratoires et cliniciens et le développement d'outils d'étude fonctionnelle.

abstract assises 2018 giraud tercc.doc

P274 : Etude prospective de l'incidence du cancer du sein et de l'ovaire chez les femmes porteuses de mutations des gènes BRCA1 ou BRCA2 en Auvergne

Auteurs :

Hadrien Romiguier (1), Nancy UHRHAMMER (2), Mathilde Gay-Bellile (2), Jérôme Fayolle (2), Yves-Jean Bignon (2), François Cornélis (3, 4), Lemlih OUCHCHANE (1)

1. Biostatistique informatique médicale, CHU de Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, France
2. Oncogénétique, Centre Jean Perrin, Clermont-Ferrand, France
3. Génétique médicale, CHU de Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, France
4. GenHotel-Auvergne, Faculté de Médecine, Université Clermont-Auvergne, Clermont-Ferrand, France

Mots clefs : cancer du sein, cancer de l'ovaire, BRCA1, BRCA2, incidence

Résumé :

Introduction
L'optimisation de la mise en place de mesures préventives chez des femmes porteuses d'une mutation du gène BRCA1 ou BRCA2 au sein d'une population, nécessite une estimation précise du risque de survenue d'un cancer du sein ou de l'ovaire dans cette population.

Objectif
Le but de ce travail était d'estimer le risque de cancer du sein et de l'ovaire chez des femmes porteuses de mutations BRCA1 ou BRCA2 en Auvergne, sur une cohorte prospective.

Matériel et Méthodes
Sur la période 1988-2015, les femmes porteuses de mutation BRCA1/2 indemnes de cancer du sein ou de l'ovaire au moment de leur diagnostic génétique au Centre Jean-Perrin à Clermont-Ferrand ont été suivies. Les cas incidents de cancer du sein et de l'ovaire ont été recensés. Les risques cumulés à 80 ans de cancer du sein et de l'ovaire ont été estimés par l'analyse de survie. La prise en compte des antécédents familiaux a été menée avec le package Coxme.

Résultats
Respectivement pour BRCA1 et BRCA2, 124 et 94 femmes porteuses d'une mutation BRCA1 et BRCA2 de 83 et 63 familles, d'âge médian de 33 et 36 ans ont été suivies pour un total de 1042 et 804 personnes-années. Le risque cumulé de cancer du sein à 80 ans a été estimé à 0,58 (IC95% = [0,35 – 0,73]) pour les porteuses d'une mutation BRCA1 et à 0,38 (IC95% = [0,15 – 0,55]) pour les porteuses d'une mutation BRCA2. Pour le cancer de l'ovaire, le risque cumulé à 80 ans a été estimé à 0,16 (IC95% = [0 – 0,32]) pour BRCA1 et à 0,08 (IC95% = [0 – 0,23]) pour BRCA2. Les antécédents familiaux de cancer du sein on montré un accroissement de 22% et 6% par cas de cancer familial, non significatif.

Discussion et Conclusion
Ces résultats d'une étude prospective précisent les risques des femmes porteuses de mutations BRCA1 ou BRCA2 en Auvergne au cours de la période 1988-2015. Ces chiffres sont inférieurs à ceux obtenus dans une grande étude internationale publiée récemment, étudiant 17 à 18 fois plus de femmes, sans différence significative entre les pays, la France étant représentée avec des effectifs 6 à 8 fois supérieurs (Kuchenbaecker et al, JAMA 2017, 317 :2402-16). Respectivement pour BRCA1 et BRCA2, le risque de cancer du sein à 80 ans était de 0,72 et 0,69 ; le risque de cancer de l'ovaire à 80 ans était de 0,44 et 0,17. Les intervalles de confiance de ces risques étaient disjoints avec ceux de notre étude pour le cancer du sein / BRCA2 et le cancer de l'ovaire / BRCA1, suggérant que l'environnement et/ou le fond génétique en Auvergne puissent être protecteurs, sous réserve de l'absence de biais. La présence d'au moins 2 apparentées atteintes de cancer du sein dans les 2 premiers degrés de parenté, versus l'absence, était significativement associée à une augmentation du risque dans Kuchenbaecker et al.

P275 : Mutation constitutionnelle brésilienne du gène TP53 : données d'une famille française

Auteurs :

Céline Gasnier (1), Thierry Frebourg (2), Gaëlle Bougeard Denoyelle (2), Stéphanie Baert Desurmont (2), Florence Polycarpe (1), Fanny Cohen (1), Zoe Neviere (1), Pascaline Berthet (1)

1. Service d'oncogénétique clinique, Centre François Baclesse, Caen, France
2. Service de Génétique, CHU de Rouen Inserm U1245, IRIB Centre Normand de Génomique et de Médecine Personnalisée , CHU de Rouen, Rouen, France

Mots clefs : Li-Fraumeni syndrome, TP53, plexus choroid tumor, cortical carcinoma, breast cancer, gastric cancer

Résumé :

En 2014, la petite L, âgée de 7 mois, a présenté un corticosurrénalome sécrétant. Dans ses antécédents familiaux, sa grand-mère maternelle a développé un sarcome de la cuisse à 49 ans et un cancer du sein (CCI grade II RH+) à 50 ans. Un frère de cette grand-mère a développé un cancer de l'estomac à 38 ans.
En parallèle du traitement chirurgical par surrénalectomie droite, une analyse génétique sur le gène *TP53* a identifié une mutation délétère (c.1010G > A, P.Arg337His). Cette mutation est rapportée principalement au sud du Brésil, où sa fréquence est de 0.3%. Sa pénétrance est moyenne et ses effets modérés.
Par la suite, en 2015, un des petits cousins maternels de L, descendant de son grand-oncle ayant présenté un cancer de l'estomac précoce, a développé un carcinome des plexus choroïdes à 5 ans. L'information familiale avait été tansmise sans que d'analyse ait été réalisée chez lui.
A ce jour, dans cette famille, 13 analyses ont été effectuées. 5 personnes de 4, 7, 25, 28 et 30 ans sont porteuses indemnes. 2 personnes sont porteuses obligatoires sans confirmation moléculaire et ont développé un cancer du sein et un sarcome pour l'une et un cancer de l'estomac à 38 ans pour l'autre.
Il a été mis en place une surveillance renforcée avec IRM mammaire pour les femmes porteuses et la possibilité de mastectomie considérée. Pour les enfants, une surveillance par échographie abdominale et bilans biologique et urinaire est recommandée pour la surveillance des corticosurrénales.
Cette mutation du gène *TP53* explique l'histoire familiale de cancer pédiatrique et leur histologie.
Le corticosurrénalome, première tumeur décrite associée à cette mutation, le sarcome des tissus mous, la tumeur des plexus choroïde et le cancer du sein sont retrouvés fréquemment dans le spectre du syndrome de Li Fraumeni. En revanche, le cancer l'estomac est peu représenté. Dans la littérature, 1 seul cas de cancer de l'estomac lié à cette mutation est connu : 1 garçon de 12 ans au Brésil. Il n'y a pas de lien établi entre la présence de cette mutation et le risque de cancer à ce niveau.
La pénétrance par génération dans cette famille est très hétérogène : les 3 personnes porteuses de la génération des parents de L. sont asymptomatiques alors qu'à la génération précédente, au moins 2 personnes porteuses étaient symptomatiques.
En 2015, il n'y avait que 2 familles non brésiliennes pour lesquelles cette mutation a été rapportée: une famille française d'origine portugaise où le cas index était une petite fille de 8 ans et une famille allemande où le cas index était une femme de 71 ans. Toutes les 2 avaient développé un corticosurrénalome.
Au vu de cette histoire familiale particulière, avec une génération trentenaire qui compte plusieurs personnes porteuses indemnes et dans la mesure où la pénétrance parait faible mais avec un spectre élargi, nous aborderons la question du conseil génétique et des recommandations de surveillance.

P276 : Détection des anomalies chromosomiques de structure en faible mosaïque par l'utilisation des puces SNP et de la fréquence allélique.

Auteurs :

Aicha Boughalem (1), Laurence Lohmann (1), Mylène Valduga (1), Pascale Kleinfinger (1), Detlef Trost (1)

1. génétique, Laboratoire CERBA, PARIS, France

Mots clefs : Anomalie de structure chromosomique, mosaïque faible, SNParray, fréquence allélique, LogRatio(LRR).

Résumé :

L'avènement d'outils génomiques à haute résolution, tels que les puces de polymorphisme à un seul nucléotide (SNP array), a surmonté de nombreuses limites des techniques cytogénétiques traditionnelles, permettant d'identifier simultanément la variation du nombre de copies (CNV), le polymorphisme à un seul nucléotide (SNP), le génotypage, les régions d'homozygotie ainsi que la détection de petits réarrangements affectant un faible pourcentage de cellules.
Ces techniques utilisent le log R ratio (LRR) qui correspond à l'intensité du signal par rapport à la référence interne et la fréquence allélique qui correspond à la fréquence de l'allèle A et de l'allèle B pour chaque sonde, dont on peut déduire le génotype SNP. En cas de mosaïcisme à faible taux (délétion ou duplication), l'interprétation du log R Ratio seul (LRR) est insuffisante car sa valeur est proche de 0 comparée aux délétions ou aux duplications homogènes. Dans ce cas, les mosaïques peuvent être mises en évidence notamment par l'évaluation des valeurs de fréquence allélique intermédiaires.
Nous rapportons 6 cas de mosaïques à faible taux (≤10%) afin d'illustrer l'intérêt de la fréquence allélique dans la détection d'une anomalie de structure chromosomique non homogène. Les résultats obtenus ont tous été vérifiés par une analyse FISH (Hybridation In situ par Fluorescence).
Ces résultats montrent l'intérêt de la différence allélique en SNParray pour détecter des mosaïques à faible taux difficilement identifiables avec le Log R Ratio (LRR).

Abstract Assises 2018.docx

P277 : Dépistage familiale d'une mutation constitutionnelle du gène SMARCA4.

Auteurs :

Philippe DENIZEAU (1, 2), Brivael GERY (3, 4), Vanessa COLOMBERT (3, 4), Louise CRIVELLI (3, 4), Sylvie ODENT (5)

1. Génétique Médicale - Oncogénétique, Hopital Rennes Sud, Rennes, France
2. Génétique Médicale - Oncogénétique, Centre Eugène Marquis, Rennes, France
3. Service de Génétique Médicale - Oncogénétique, CHU Rennes Sud, Rennes, France
4. Service de Génétique Médicale - Oncogénétique, Centre Eugène Marquis, Rennes, France
5. Service de Génétique Médicale, CHU Rennes Sud, Rennes, France

Mots clefs : SMARCA4, Dépistage ciblé, aide médicale à la procréation

Résumé :

Les tumeurs de l'ovaire à petite cellule de type hypercalcémiant sont des cancers rares de haut grade. Ce sont les entités les plus fréquentes chez les jeunes femmes de moins de 40 ans. Récemment, il a été démontré que des mutations constitutionnelles du gène *SMARCA4* étaient responsables d'un sur-risque de ce type de tumeur. Le spectre comprend également des tumeurs de type rhabdoïde, particulièrement au niveau pulmonaire. Peu de famille sont décrites et il n'existe pas à notre connaissance de description de prise en charge des apparentés porteurs sains.

Nous reportons ici l'expérience d'une famille au sein de laquelle un dépistage ciblé présymptomatique a pu être proposé. Le diagnostic de carcinome ovarien à petite cellule de type hypercalcémiant a été porté chez une femme au très jeune âge de 24 ans. L'analyse constitutionnelle du gène *SMARCA4* a permis la mise en évidence d'une mutation délétère frameshift. Son unique sœur était indemne au moment du diagnostic. Il n'existait pas d'antécédent dans sa branche maternelle. Son père était décédé des suites d'un adénocarcinome de siège primitif inconnu très peu différencié avec la présence de deux lésions cutanées non documentées à l'époque. L'une des deux tantes paternelles du cas index était décédée à l'âge de 24 ans des suites d'une tumeur ovarienne étiquetée en 1991 de tumeur de la granulosa de type juvénile. Deux de ses quatre oncles paternels était suivi pour une tumeur bronchique dans un contexte tabagique.
Devant la suspicion de forme familiale, un dépistage ciblé pré symptomatique a été proposé à la sœur et la mère du cas index. La sœur âgée de 35 ans au moment du dépistage était indemne. Après plusieurs entretiens médicaux et psychologiques faisant état de la limite des connaissances actuelles et des possibilités de prise en charge, l'analyse ciblée de la mutation familiale a été réalisée. La patiente s'est révélée porteuse de la variation familiale. Cette dernière n'ayant pas d'enfant mais un projet parental établis, une prise en charge en aide la procréation lui a été proposée. Après discussion multidisciplinaire, une annexectomie prophylactique avec cryoconservation du parenchyme ovarien a été réalisée rendant possible une futur grossesse. Cette prise en charge a été validée devant la demande de la patiente, les difficultés anticipées d'un suivi ovarien et ceux malgré l'absence d'évaluation possible de la pénétrance de ce syndrome.

La mère n'était pas porteuse de la variation familiale et l'origine paternelle a été confirmée dans un second temps. Une consultation a été proposée à l'ensemble des apparentés dans leurs lieu de résidence respectif.

P278 : Place de la cytogénétique et de la biologie moléculaire dans les troubles de la différenciation sexuelle

Auteurs :

Said TRHANINT (1), Said TRHANINT (1)

1. Unité de Génétique Médicale et d'oncogénétique, Laboratoire centrale d'analyses Médicales, CHU Hassan II, Fès Maroc., CHU Hassan II, Fès Maroc., fes, Maroc

Mots clefs : Ambigüité sexuelle, différenciation sexuelle, cytogénétique, biologie moléculaire

Résumé :

Place de la cytogénétique et de la biologie moléculaire dans les troubles de la différenciation sexuelle

TRHANINT S[1], OTMANI I[1], AHAKOUD M[1], KETTANI O[1], MODY D. [1], SAYEL H.[1], ABBASSI M.[1], ABOURAZZAK S[2,3], HIDA M[2,3], OULDIM K.[1,3], BOUGUENOUCH L.[1,3]

1 : Unité de Génétique Médicale et d'oncogénétique, Laboratoire centrale d'analyses Médicales, CHU Hassan II, Fès Maroc.
2 : Service de pédiatrie, hôpital Mère-Enfant, CHU Hassan II, Fès, Maroc.
3 : Faculté de Médecine et de Pharmacie Fès

INTRODUCTION
Les troubles de la différenciation sexuelle sont à l'origine d'une discordance entre le sexe proprement dit (phénotypique) et le sexe génétique (génotypique) ce qui pose un problème de détermination du sexe.
Le but de ce travail, est de mettre en évidence la place de la cytogénétique et de la biologie moléculaire dans les troubles de différentiations sexuelle.
Il s'agit d'une étude rétrospective descriptive menée au niveau du laboratoire de génétique médicale et d'oncogénétique durant une période comprise entre septembre 2009 et septembre 2017.

MATERIEL ET METHODES
75 patients porteurs de trouble de différentiation sexuelle ont été inclus dans ce travail.
Les préparations chromosomiques ont été obtenues à partir de la culture des lymphocytes sanguins selon la technique classique avec étalement sur des lames. Un caryotype constitutionnel métaphasique en Bandes R, et une FISH sur préparations chromosomiques ont été effectués. Une étude du gène *SRY* par PCR séquençage a été réalisée chez certains cas.

RESULTATS
L'âge moyen de diagnostic des troubles de différentiations sexuelles est 14,3 ans. Le retard staturopondéral est le signe le plus fréquent, il est retrouvé dans 32,25 % des cas. L'aménorrhée, la stérilité, la dysmorphie et le micropénis viennent en second plan. 72,58 % des cas étudiés présentent des troubles de différentiation sexuelle d'origine chromosomique dont le syndrome de Turner est le plus fréquent. On a pu déduire à travers notre étude que le résultat de la cytogénétique et de la biologie moléculaire ne peut être utile en absence de constatations cliniques, biologique et radiologiques bien illustrées, et que la recherche d'étiologie nécessite l'exploration d'autres gènes aussi importants que le gène du déterminisme sexuel

CONCLUSION
On conclut finalement, que la cytogénétique et la biologie moléculaire, aussi spécifique et fiable qu'elle soit, ne permettent pas de prendre en charge les troubles de différenciation sexuelle sans contribution des autres disciplines. Ainsi, une prise en charge multidisciplinaire est recommandée.

Mots-clés : Ambigüité sexuelle, différenciation sexuelle, cytogénétique, biologie moléculaire

troubles de differenciation.docx

P279 : L'apport de la consultation d'oncogénétique à travers le séquençage haut débit des gènes BRCA1 et BRCA2, A propos de neuf familles marocaines

Auteurs :

benrahma houda (1, 2), benrahma houda (3), faiza chbel (4, 2), hasna hamdaoui (2), hanane terfous (2), karim ouldim (4, 2), hossein mossafa (2)

1. faculté de médecine , Université Mohammed VI des Sciences de la Santé (UM6SS) , casablanca, Maroc
2. Laboratoire National de Référence , (LNR), casablanca, Maroc
3. , aucun, casablanca, Maroc
4. faculté de médecine , Université Mohammed VI des Sciences de la Santé (UM6SS), casablanca, Maroc

Mots clefs : BRCA1 , BRCA2, NGS, cancer du sein

Résumé :

Le cancer du sein est le cancer plus fréquent chez les femmes, avec plus d'un million de nouveaux cas chaque année dans le monde. Au Maroc, le cancer touche environ 30000 personnes chaque année. Parmi les femmes atteintes du cancer, 34,7% ont un cancer du sein, ce qui représente environ 7.000 nouveaux cas de cancer du sein par an.
Ils s'agit d'une maladie très hétérogène, les patientes présentant les mêmes caractéristiques cliniques peuvent évoluer différemment, ce qui impose l'utilisation de nouveaux outils diagnostiques pour mieux prendre en charges les patientes à risques.
Cinq à 10% des cancers du sein sont dus à une prédisposition héréditaire. L'identification des gènes *BRCA1* et *BRCA2*, qui confèrent un risque élevé de développer un cancer du sein et/ou de l'ovaire, a permis une meilleure compréhension des formes familiales du cancer du sein.
La recherche des mutations au niveau de ces deux gènes, ainsi que d'autre gènes de prédisposition au cancer du sein et/ou de l'ovaire par les nouvelles techniques de séquençage haut débit offre l'avantage d'améliorer la prise en charge des personnes à risque et de celles non porteuses des mutations.
Dans ce travail, nous rapportant l'expérience du Laboratoire National de Référence dans la mise en place de la consultation d'oncogénétique pour les patientes présentant un cancer du sein et/ou de l'ovaire. Pour ces patientes une analyse génétique par séquençage haut débit des gènes*BRCA1* et *BRCA2a été effectué* chez 9 cas familiaux du cancer de sein dont deux patientes non atteintes mais avec des antécédents familiaux. Parmi ces cas familiaux une patiente présente un cancer du sein et de l'ovaire pour laquelle en plus *BRCA1* et *BRCA1* panel, un séquençage du panel «*Breast ovarain cancer panel*» a été réaliser.
Chez 2 patientes, nous avons identifié deux mutations à l'état hétérozygote : c.798_799delTT p.(Ser267Lysfs*19) et c.4180del p.(Thr1394Leufs*11). Pour les autres patientes nous sommes en cours d'explorations un autre panel incluant les gènes suivants : *TP53, PTEN , STK11 , CDH1, ATM , CHEK2 , PALB2, NBN , BRIP1 , BARD1* et*RAD51C*), à la recherche de d'autres mutations délétères.
A travers ce travail nous mettons en valeur l'apport de la consultation d'oncogénétique dans la prise en charge et le conseil génétique du cancer du sein et/ou de l'ovaire dans la population marocaine

résumé benrahma et al..docx

P280 : Léiomyomes utérins multiples et familiaux : à la recherche de nouveaux gènes de prédisposition ?

Auteurs :

Jessica LE GALL (1), Bertrand ISIDOR (1), Brigitte BRESSAC DE PAILLERETS (2)

1. Génétique médicale, CHU Hôtel-Dieu, Nantes, Nantes, France
2. Département de biopathologie, CLCC Institut Gustave Roussy, VILLEJUIF, France

Mots clefs : Léiomyome utérins, HLRCC, gène FH

Résumé :

Le fibrome utérin, également appelé léiomyome, est la tumeur bénigne de la femme en âge de procréer la plus fréquente. L'un des facteurs de risque connu est l'histoire familiale. Le syndrome de léiomyomatose avec cancer rénal (HLRCC), dû à des mutations dans le gène *FH*, associe des léiomyomes utérins multiples, des léiomyomes cutanés et une prédisposition au cancer rénal estimée à 10%.
A Nantes, au cours de consultations de génétique, 9 femmes présentant des fibromes multiples, précoces, sévères avec une histoire familiale associée ont été vues. La recherche de mutation dans le gène *FH* a été réalisée chez l'ensemble d'entre elles, et était positive chez une patiente. Une hétérogénéité génétique est donc probable. L'identification d'autres facteurs génétiques de prédisposition permettrait une meilleure compréhension de la génèse de ces fibromes utérins.

P281 : Le syndrome délétion 1p36: 1ère observation marocaine

Auteurs :

KENZA DAFIR (1), Fatimazzahra Bouzid (1, 2), maria mansouri (1), hassan akallakh (1), NISRINE ABOUSSAIR (2)

1. SERVICE DE Génétique, chu mohammed VI marrakech, MARRAKECH, Maroc
2. SERVICE DE Génétique, Faculté de médecine et de pharmacie de Marrakech, MARRAKECH, Maroc

Mots clefs : Microdélétion 1p36, FISH, conseil génétique

Résumé :

Introduction: Le syndrome de délétion 1p36 (OMIM : 607872) est une anomalie chromosomique caractérisée par une dysmorphie faciale caractéristique, un retard de croissance intra-utérin, une hypotonie, un retard de développement, un déficit intellectuel, une épilepsie, des malformations cardiaques et une détérioration de l'ouïe. C'est le syndrome délétionnel le plus répandu, avec une incidence de 1/5000 à 1/10000 naissances vivantes. Il est dû à une délétion hétérozygote partielle subtélomérique du bras court du chromosome 1, avec des points de rupture allant de 1p36.13 à 1p36.33. Environ 50% des cas sont dus à une délétion terminale de novo en 1p36, environ 29% à une délétion interstitielle, et le reste des cas à des réarrangements chromosomiques plus complexes.
Matériels et méthodes: Nous rapportons la première observation marocaine de délétion 1p36 adressée à la consultation de génétique médicale du CHU Mohammed VI de Marrakech pour un syndrome dysmorphique, des convulsions, un retard staturo-pondéral, une hypothyroidie et une hypotonie. Ce tableau clinique nous a fait évoqué une délétion 1p36. Par conséquent, une FISH locus spécifique Probe Set [LSI p58(1p36) Spectrum Orange /TelVysion 1p Spectrum Green /LSI 1q25 Spectrum Aqua] a été réalisée.
Résultats:La FISH ciblée a confirmé la présence d'une microdélétion hétérozygote en 1p36: ish del (1) (p36p36) (p58-/tel 1p-)
Conclusion: A travers ce travail, nous soulignons le rôle du généticien dans le diagnostic de la microdélétion 1p36 ainsi que la prise en charge clinique, et l'élaboration d'un conseil génétique adéquat.

P282 : Syndrome d'Angelman héréditaire. A propos d'un cas

Auteurs :

Mody Diop (1), Mody Diop (2)

1. Unité de génétique médicale et oncogénétique, CHU Hassan de Fès, Fès, Mariannes du Nord
2. Unité de génétique médicale et oncogénétique, CHU Hassan de Fès, Fès, Maroc

Mots clefs : Angelmann, remaniement parental, conseil génétique

Résumé :

Introduction
Syndrome d'Angelman(AS) est un trouble du développement neurologique caractérisé par un certain nombre de problèmes neurologiques, comprenant le retard de développement, les troubles du mouvement et des crises d'épilepsie. A la naissance les enfants atteints ont une apparence normale,on observe une hypotonie à partir de 6 mois suivis d'un retard du développement entre 6 mois et 2 ans . A partir de 1 an la symptomatologie typique se développe. Les signes caractéristiques évoluent avec l'âge, avec l'épaississement des traits du visage et l'apparition d'une scoliose et de troubles locomoteurs. Les crises épileptiques persistent à l'âge adulte alors que l'hyperactivité, les troubles de l'attention et les problèmes de sommeil s'améliorent. On distingue plusieurs mécanismes génétiques à l'origine de la maladie tels qu'une délétion de la région critique 15q11.2-q13 (60 à 75 % des cas), une disomie uni parentale paternelle (2 à 5 % des cas), un défaut d'empreinte (2 à 5 %) et une mutation du gène UBE3A (10 % des cas). Moins de 1% des cas avec le syndrome d'Angelman(SA) sont causés par des réarrangements chromosomiques.
Méthodologie
Nous rapportons ici l'observation d'un garçon âgé de 16 ans avec des signes cliniques en faveur du syndrome d'Angelman (épilepsie, retard psychomoteur, dysmorphie faciale, hypotonie, et trouble du langage) ; avec une sœur présentant la même symptomatologie.
Apres prélèvement sur tube héparine culture de 72 heures et préparation des cellules métaphasiques,nous avons procédé à l'hybridation in situ en utilisant la sonde « Viysis praderwilli /Angelman region probe –LSI GABRB3 Spectrum orange/CEP 15(D15Z1) Spectrum green ».

angelmann.docx

P283 : Diagnostic des syndromes microdeletionnels au chu hassan II fès

Auteurs :

Mody Diop (1)

1. Unité de génétique médicale et oncogénétique, CHU Hassan de Fès, Fès, Maroc

Mots clefs : syndromes microdélétionnels, cytogénétique moléculaire, conseil génétique

Résumé :

Introduction
Les syndromes microdélétionnels constituent un ensemble de pathologies caractérisées par une perte de matériel chromosomique inferieur à 5 Mb indétectable au caryotype standard décelable par cytogénétique moléculaire (FISH) ou une aneusomie segmentaire. De nos jours plusieurs syndromes ont été décrits et peuvent être confirmés aisément, les plus recherchés sont Le syndrome de Williams (microdélétion en 7q11.23), le syndrome de la délétion 22q11 (microdélétion en 22q11.2), le syndrome d'Angelman/Prader Willi (15)(q11q13),le syndrome de Smith Magenis del (17p11.2), et le Sd de Miller Dieker:del 17p13.3. Nous rapportons des observations au CHU Hassan II confirmées par FISH :Syndrome de la délétion 22q11 (n:1) et un syndrome de Williams(n=3) ;le syndrome d'Angelman(n=1). Le but est la mise en valeur du rôle de la cytogénétique moléculaire dans le diagnostic et le conseil génétique des syndromes microdélétionnels.
Observation
Nous rapportons notre série de syndromes microdélétionnels confirmés par FISH : Syndrome de la délétion 22q11 (1cas) , syndrome de Williams(3 cas) ; et syndrome d'Angelman(1cas). Le but est la mise en valeur du rôle de la cytogénétique moléculaire dans le diagnostic et le conseil génétique de ces syndromes.
Méthodologie
Les préparations chromosomiques sont obtenues à partir de la culture des lymphocytes sanguins selon la technique classique avec étalement sur des lames. Un caryotype constitutionnel métaphasique en Bandes R, à la recherche d'éventuelles translocations ;et une FISH sur préparations chromosomiques ont été effectués. Les sondes utilisées sont : « Viysis praderwilli /Angelman region probe –LSI GABRB3 Spectrum orange/CEP 15(D15Z1) Spectrum green », Vysis DiGeorge Region Probe- LSI TUPLE 1 SpectrumOrange 22q11.2 /LSI ARSA SpectrumGreen 22q13; et Vysis Williams Region Probe - LSI ELN SpectrumOrange/LSI D7S486, D7S522 SpectrumGreen.
Résultats
Nous avons confirmé par FISH le diagnostic du Syndrome d'Angelman pour le proposant 1 par la mise en évidence de la délétion de la région critique 15q11.2-q13 ; le Syndrome de la délétion 22q11 pour le proposant 2(microdélétion hémizygote en position 22q11.2) et le Syndrome de Williams pour les proposants 3 ;4 ;et 5(micro délétion chromosomique hémi zygote en position 7q11.23).
Conclusion
L´apparition des techniques de haute résolution chromosomique dans les années 1980 a permis de mettre en évidence des microremaniements dans des syndromes individualisés dans les années 60. Les insuffisances de ces techniques ont été comblées par la cytogénétique moléculaire (FISH) qui donne des résultats plus précis. Cette technique est capitale dans l'exploration des syndromes microdélétionnels ayant pour but la confirmation diagnostic, le conseil génétique et la prise en charge qui est le plus souvent multidisciplinaire. L'intérêt de ce travail est d'illustrer pour les praticiens le rôle de la cytogénétique moléculaire dans la prise en charge des syndromes microdélétionnels.

Syndromes microdélétionnels.docx

P284 : Ni un syndrome de Langer-Giedion, ni un syndrome de Cornelia de Lange : Un cas atypique de microdélétion 8q23.3q24.12

Auteurs :

Morgane Plutino (1), Véronique Duboc (1), Gaele Pitelet (2), Stéphanie Manceau (1), Agnès Angelozzi (1), Fabienne Giuliano (1), Houda Karmous-Benailly (1)

1. Service de génétique médicale, CHU de Nice, Nice, France
2. Hôpitaux pédiatriques de Nice, service de Pédiatrie, CHU de Nice, Nice, France

Mots clefs : Syndrome de Langer-Giedion, Syndrome de Cornelia de Lange de type 4, RAD21, EXT1

Résumé :

Le syndrome de Langer-Giedion ou syndrome tricho-rhino-phalangien type 2 (TRPS2) est un syndrome rare, de transmission autosomique dominante. Ce syndrome associe une déficience intellectuelle et des exostoses à une petite taille, une microcéphalie et une dysmorphie faciale. Il est dû à une microdélétion de gènes contigus de taille variable, la région critique comporte notamment *TRPS1* et *EXT1* en 8q24.1-q24.13. Deardorff et al. (2012) a identifié une association critique entre le syndrome de Cornelia de Lange (CDLS) de type 4 et des remaniements au niveau de *RAD21*, également localisé au niveau du locus 8q24.11. Ces 2 syndromes partagent certaines particularités : certains patients atteints du TRPS2 avec des délétions emportant *RAD21,* mais pas *TRPS1*, présentent une dysmorphie faciale typique : sourcils épais, philtrum long et plat, lèvre supérieure fine. Les individus porteurs d'une délétion ou d'un variant pathogène à l'état hétérozygote dans *RAD21* ont un phénotype ressemblant à celui de CDLS. Les conséquences phénotypiques de l'interruption de *RAD21* semblent être sous-estimées chez ces patients mais très peu de cas sont décrits dans la littérature. Nous présentons ici le cas d'une fille porteuse d'une microdélétion de 1,8Mb emportant *EXT1* et *RAD21* mais pas *TRPS1* avec un phénotype atypique. La grossesse, bien que gémellaire, et l'accouchement se sont déroulés sans particularité. Notre patiente s'est développée avec un retard de croissance staturo-pondéral post-natal, un retard psychomoteur modéré, une exostose cartilagineuse. De plus, elle présente des caractéristiques inhabituelles : une incisive centrale unique et une sténose des orifices pyriformes. Son phénotype ne correspond ni à TRPS2 ni à un CDLS de type 4. Nous discuterons le rôle de cette microdélétion interstitielle dans l'apparition du phénotype de notre patiente en confrontant les données de la littérature actuelle.

Ni un syndrome de Langer[4568].doc

P285 : La mutation JAK2V617F dans les syndromes myéloprolifératifs Philadelphie négatif : Première série du service de génétique du CHU Mohammed VI de Marrakech

Auteurs :

meriem elqabli (1), hassan akallakh (1), maria mansouri (1), Fatimazzahra Bouzid (1, 2), NISRINE ABOUSSAIR (2)

1. SERVICE DE Génétique, chu mohammed VI marrakech, MARRAKECH, Maroc
2. SERVICE DE Génétique, Faculté de médecine et de pharmacie de Marrakech, MARRAKECH, Maroc

Mots clefs : Gène JAK2, mutation (V617F), syndromes myéloprolifératifs Philadelphie négatif, PCR-AS.

Résumé :

La mutation JAK2 V617F de l'exon 14 du gène *JAK2* est une anomalie moléculaire ponctuelle du gène codant pour la protéine kinase *JAK 2*. Il s'agit de l'anomalie génétique la plus fréquente dans les syndromes myéloprolifératifs Philadelphie négatif (SMP Ph-), qui constituent un groupe de maladies caractérisées par une prolifération anormale des cellules de la lignée myéloïde. Ils regroupent la polyglobulie de Vaquez (PV), la thrombocytémie essentielle (TE) et la myélofibrose primitive (MFP).
Dans ce travail, nous rapportons les résultats de l'étude moléculaire par PCR allèle spécifique (PCR-AS), chez 25 patients adressés au service de génétique du CHU Mohammed VI de Marrakech pour une suspicion de SMP Ph-.
Dans notre travail nous avons détecté la mutation chez 13 patients (soit 52%), dont 7 (soit 53,8 %) sont atteints de la Polyglobulie de Vaquez, et 5 (soit 38,4%) sont atteints de la Thrombocytémie Essentielle . Par ailleurs, la mutation a été détectée chez une patiente adressée pour SMP Ph-.
Le présent travail souligne l'intérêt de la recherche de JAK2 chez les malades atteints de syndromes myéloprolifératifs Philadelphie négatifs

P286 : Somatic mosaicism PIK3CA Mutation in a Patient with PIK3CA-Related Overgrowth Spectrum

Auteurs :

Mohamed Ahakoud (1), Oussama Kettani (1), Said Trhanint (1), Ihsane El Otmani (1), Hanane Sayel (1), Meriame Abbassi (1), Mody Diop (1), Hanane Baybay (2), Fatima Zahra Mernissi (2, 3), Karim Ouldim (1, 4), Laila Bouguenouch (1, 5)

1. Unité de Génétique médicale et Oncogénétique, CHU Hassan II Fès, Fès, Maroc
2. Service de Dermatologie, CHU Hassan II Fès, Fès, Maroc
3. Professeur d'enseignement supérieur, Faculté de médecine et de pharmacie, Fès, Maroc
4. Professeur Agrégé, Faculté de médecine et de pharmacie, Fès, Maroc
5. Professeur assistant, Faculté de médecine et de pharmacie, Fès, Maroc

Mots clefs : PIK3CA-Related Overgrowth Spectrum, PIK3CA gene

Résumé :

Abstract:
The phosphatidylinositol-3-kinase (PI3K)/AKT/mTOR signaling pathway plays an essential role in regulation of normal cell growth, metabolism, and survival. Somatic activating mutations in the PI3K/AKT/mTOR pathway are among the most common mutations identified in cancer, and have been shown to cause a spectrum of overgrowth syndromes including PIK3CA-Related Overgrowth Spectrum, Proteus syndrome, and brain overgrowth conditions. Clinical findings in these disorders may be isolated or multiple, including sporadic or mosaic overgrowth (adipose, skeletal, muscle, brain, vascular, or lymphatic), and skin abnormalities (including epidermal nevi, hyper-, and hypopigmented lesions), and have the potential risk of tumorigenesis.
we report the case of a 15-month-old infant with left brain hemihypertrophy, macrodactyly, multiple-angioma type skin lesions, with cerebral MRI hemihypertrophy of the cerebral hemisphere and absence of pathological encephalic vascular lesions.The molecular diagnosis was carried out by the sequencing of PIK3CA gene on lesional and leukocyte DNA.
The aim of this study is to update our clinical and genetic aspects knowledge of PIK3CA-Related Overgrowth Spectrum. through this observation we illustrate the role of multidisciplinary treatment of the patients to avoid any secondary complications, some of which may be fatal.

Somatic mosaicism PIK3CA Mutation in a Patient with PIK3CA-Related Overgrowth Spectrum.docx

P287 : Prise en charge du Syndrome de Turner avec présence du gène SRY

Auteurs :

Mohamed Ahakoud (1), Hanane Sayel (1), Meriame Abbassi (1), Said Trhanint (1), Ihsane El Otmani (1), Mody Diop (1), Oussama Kettani (1), Sana Abourazzak (2, 3), Moustapha Hida (2, 4), Karim Ouldim (1, 3), Laila Bouguenouch (1, 5)

1. Unité de Génétique médicale et Oncogénétique, CHU Hassan II Fès, Fès, Maroc
2. Service de pédiatrie, Hôpital Mère-Enfant, CHU Hassan II Fès, Fès, Maroc
3. Professeur Agrégé, Faculté de médecine et de pharmacie, Fès, Maroc
4. Professeur d'enseignement supérieur, Faculté de médecine et de pharmacie, Fès, Maroc
5. Professeur assistant, Faculté de médecine et de pharmacie, Fès, Maroc

Mots clefs : Syndrome de Turner, Gène SRY

Résumé :

Introduction:
Le syndrome de Turner (ST) est une maladie chromosomique liée à l'absence complète ou partielle d'un chromosome X. Sa prévalence est estimée à 1/5000 (soit 1/2500 naissances chez la fille). Le tableau clinique est très hétérogène et la dysmorphie souvent modérée, voire absente. Dans tous les cas, il existe un retard statural. Une insuffisance ovarienne à début variable en fonction de l'anomalie chromosomique est fréquente. Les autres pathologies (anomalies osseuses, lymphoedème, surdité, anomalies cardiovasculaires, thyroïdiennes et digestives) sont moins fréquentes nécessitant un dépistage lors du diagnostic, puis une surveillance à l'âge adulte.Le gène SRY est détecté dans 7 % des cas, ce qui expose au risque d'une néoplasie gonadique à long terme, imposant ainsi une prise en charge prudente.
Matériels et méthodes:
Nous rapportant une série de quatre patientes qui consultent pour un retard staturo-pondéral. chez qui un caryotype et une étude moléculaire par PCR a été réalisé.
Résultats:
L'étude cytogénétique (caryotype) a mis en évidence trois cas de syndrome de turner en mosaïque avec la formule chromosomique 45,X/46,XY. et un cas avec une translocation t(Y;13) en mosaïque dont la formule chromosomique est 45,X/45,X,t(Y,13). la présence du gène SRY a été confirmée par PCR chez toutes les patientes.
Discussion:
La recherche du gène SRY n'est pas systématique dans le Syndrome de Turner mais la hantise serait de le négliger et d'augmenter ainsi le risque de dégénérescence gonadique. Une analyse par HIS et par PCR est indiquée s'il y a des signes de virilisation ou une anomalie au caryotype. Une exploration cœlioscopique est nécessaire pour une gonadectomie prophylactique.

PEC du Syndrome de Turner avec présence du gène SRY.docx

P288 : Le statut mutationnel du gène RAS dans le cancer du rectum

Auteurs :

Ihsane EL OTMANI (1, 2), Fatima El Agy (3), Mohammed ABKARI (4), Khalid MAAZAZ (5), OUSSADEN Abdelmalek (6), Naoufal MELLAS (7), Zineb BENBRAHIM (7), Abderrahman ELMAZGHI (8), Sanae BENNIS (3, 9), LAILA CHBANI (3, 9)

1. Laboratoire de Recherche Biomédicale et Translationnelle , Faculté de Médecine et de Pharmacie, Fès, Maroc
2. Unité de Génétique Médicale et d'oncogénétique, CHU HASSAN II, Fès, Maroc
3. Laboratoire de Recherche Biomédicale et translationnelle,, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Fès, Maroc
4. Service de Gastroentérologie, , CHU HASSAN II, Fès, Maroc
5. Service de Chirurgie Viscérale, CHU HASSAN II, Fès, Maroc
6. Service de Chirurgie Viscérale,, CHU HASSAN II, Fès, Maroc
7. Service d'Oncologie,, CHU HASSAN II, Fès, Maroc
8. Service de Radiothérapie,, CHU HASSAN II, Fès, Maroc
9. Service d'Anatomie et de Cytologie Pathologique, , CHU HASSAN II, Fès, Maroc

Mots clefs : RAS, Traitement néoadjuvant, cancer rectal.

Résumé :

Introduction :
La prise en charge actuelle du cancer du rectum localement avancé implique une excision mésorectale totale, qui peut être précédée d'une radiochimiothérapie néo-adjuvante. La réponse individuelle au traitement néoadjuvant est variable d'où la nécessité d'identifier des biomarqueurs de prédiction de la réponse thérapeutique. Le rôle de l'oncogène KRAS dans le cancer rectal reste équivoque.**Matériel et méthodes :** Il s'agit d'une étude rétro et prospective, intéressant 50 patients présentant un adénocarcinome rectal. L'ADN tumoral de chaque patient a été extrait a partir des coupes de biopsies avant traitement néoadjuvant. **Objectif :** L'objectif de cette étude et de déterminer le statut mutationnel du RAS du cancer rectal et de corréler ce statut avec la survie des patients et de la réponse histologique. **Conclusion :**
Le statut mutationnel du RAS du cancer rectal pourrait constituer un biomarqueur prédictif la réponse au traitement néoadjuvant dans le cancer rectal, afin de sélectionner les candidats à un traitement chirurgical.

Le statut mutationnel du gène KRAS dans le cancer du rectum.docx

P289 : Syndrome de Turner en mosaïque avec présence et duplication du locus SRY:à propos d'une observation.

Auteurs :

Mohamed Ahakoud (1), Mody Diop (1), Ihsane El Otmani (1), Said Trhanint (1), Oussama Kettani (1), Meriame Abbassi (1), Hanane Sayel (1), Sana Abourazzak (2, 3), Moustapha Hida (2, 4), Karim Ouldim (1, 3), Laila Bouguenouch (1, 5)

1. Unité de Génétique médicale et Oncogénétique, CHU Hassan II Fès, Fès, Maroc
2. Service de pédiatrie, Hôpital Mère-Enfant, CHU Hassan II Fès, Fès, Maroc
3. Professeur Agrégé, Faculté de médecine et de pharmacie, Fès, Maroc
4. Professeur d'enseignement supérieur, Faculté de médecine et de pharmacie, Fès, Maroc
5. Professeur assistant, Faculté de médecine et de pharmacie, Fès, Maroc

Mots clefs : Syndrome de Turner, chromosome X, SRY, Retard staturo-pondéral, caryotype

Résumé :

Introduction:
Le syndrome de Turner (ST) est une maladie chromosomique liée à l'absence complète ou partielle d'un chromosome X. Sa prévalence est estimée à 1/5000 (soit 1/2500 naissances chez la fille). Le tableau clinique est très hétérogène et la dysmorphie souvent modérée, voire absente. Dans tous les cas, il existe un retard statural. Une insuffisance ovarienne à début variable en fonction de l'anomalie chromosomique est fréquente. Les autres pathologies (anomalies osseuses, lymphoedème, surdité, anomalies cardiovasculaires, thyroïdiennes et digestives) sont moins fréquentes nécessitant un dépistage lors du diagnostic, puis une surveillance à l'âge adulte.
Bien que spécifiquement masculin, le chromosome Y peut s'observer chez des sujets de sexe féminin et plus particulièrement chez des femmes présentant des signes de syndrome de Turner. Il peut s'agir de chromosomes Y ayant perdu le gène de déterminisme testiculaire SRY ou porteurs d'un gène SRY muté, entraînant une dysgénésie gonadique isolée chez des femmes dont la taille sera par ailleurs normale.
Matériels et méthodes:
Nous rapportons une observation d'une fille de 17 ans, issue d'un mariage consanguin, qui consulte pour un retard staturo-pondéral, retard pubertaire et aménorrhée primaire. un caryotype et une HIS a été réalisé chez la patiente.
Résultats:
La cytogénétique moléculaire chez notre patiente a mis en évidence la présence d'un syndrome de turner en mosaïque avec présence et duplication du locus SRY.
Discussion:
A travers cette observation nous mettons en valeur le rôle de la cytogénétique dans le diagnostic des dysgonosomies, car un diagnostic précis permet une meilleure prise en charge multidisciplinaire du patient, un conseil génétique adéquat et une économie de santé en évitant des investigations inutiles et des hospitalisations longues et coûteuses.

Syndrome de Turner en mosaïque avec présence et duplication du locus SRY-à propos d'une observation.docx

P290 : Recherche de la mutation V617F dans les syndromes myéloprolifératifs chroniques non LMC: à propos de 158 cas.

Auteurs :

Mohamed Ahakoud (1), Hanane Sayel (1), Meriame Abbassi (1), Said Trhanint (1), Ihsane El Otmani (1), Mody Diop (1), Oussama Kettani (1), Mohammed El Abkari (2, 3), Sidi Adil Ibrahimi (2, 3), Laila Bouguenouch (1, 4), Karim Ouldim (1, 5)

1. Unité de Génétique médicale et Oncogénétique, CHU Hassan II Fès, Fès, Maroc
2. Service de Gastro-Hépato-Entérologie, CHU Hassan II Fès, Fès, Maroc
3. Professeur d'enseignement supérieur, Faculté de médecine et de pharmacie, Fès, Maroc
4. Professeur assistant, Faculté de médecine et de pharmacie, Fès, Maroc
5. Professeur Agrégé, Faculté de médecine et de pharmacie, Fès, Maroc

Mots clefs : syndromes myéloprolifératifs chroniques, LMC, JAK2, V617F, polyglobulie de Vaquez, thrombocytémie essentielle, myélofibrose primitive

Résumé :

Introduction:
Les syndromes myéloprolifératifs constituent un groupe de pathologie de la cellule souche hématopoïétique caractérisés par la prolifération clonale et maligne d'une ou de plusieurs cellule de la lignée myéloïde. Les principales formes cliniques sont la leucémie myéloïde chronique (LMC), la polyglobulie de Vaquez, thrombocytémie essentielle et la myélofibrose primitive. Les trois dernières formes sont très souvent associées à la mutation V617F de la protéine(JAK2).
A travers cette étude nous souhaitons partager notre expérience et mettre en évidence l'intérêt de la biologie moléculaire dans la prise en charge des syndromes myéloprolifératifs chroniques non LMC
Matériels et méthodes:
Étude rétrospective allant de 2012 et 2017 portant sur 158 patients suspectés d'un syndrome myéloprolifératif chronique non LMC adressés pour recherche de la mutation V617F JAK2.
Prélèvement de sang périphérique sur tube EDTA.
Extraction d'ADN par sel puis PCR allèle spécifique et électrophorèse du produit amplifié.
Résultats:
La mutation V617F du gène codant la protéine JAK2 a été retrouvée chez 27% des patients.
Discussion:
Retrouvée dans près de 90% des polyglobulies de Vaquez et dans 50 à 60% des thrombocytémie essentielle et dans 40à 50% des myélofibrose primitive la mutation V617F du gène JAK2 constitue un élément essentiel dans le diagnostic des syndromes myéloprolifératifs chroniques non LMC. La protéine JAK2 est une protéine à fonction tyrosine Kinase de la sous famille des protéines JAK une transversion G –T du gène JAK2 au niveau du nucléotide 1849 entraîne la substitution de la valine en position 617 par une phénylalanine (V6117F). En absence de cette mutation un séquençage complet de l'exon 12 du gène JAK2 est nécessaire dans les trois formes et la recherche de mutation sur l'exon 9 du gène CALR de la calréticuline dans thrombocytémie essentiel et la myélofibrose primitive.
Conclusion:
La découverte de la mutation JAK2 V617F confère un marqueur moléculaire à la polyglobulie de Vaquez et la recherche de cette mutation à intérêt un diagnostic même si elle n'est pas retrouvée chez tous les patients.

Recherche de la mutation V617F dans les syndromes myéloprolifératifs chroniques non LMC.docx

P291 : MELAPRED : premier test de susceptibilité au mélanome sporadique en pratique dermatologique quotidienne

Auteurs :

Meriem BENFODDA (1), Steven GAZAL (2), Vincent DESCAMPS (3), Hui-Han HU (1), Nika MADJLESSI (4), Céleste LEBBE (5), Nicole BASSET-SEGUIN (5), Alain ARCHIMBAUD (4), Michel BACCARD (4), Kristina OPLETALOVA (3), Valérie VUONG (3), Anne GRANGE (6), Caroline NICAISE-BERGERE (7), Frédéric RENARD (8), Sandrine MASSART-MANILE (9), Bruno MACHUEL (10), Philippe SAIAG (11), Nicola DUPIN (12), Pierre WOLKENSTEIN (13), Celia LEVY-SITBON (14), Marie-Christine LAMI (7), Elisabeth ARNOULT-COUDOUX (7), juliette JEGOU (15), Michel COLOMB (7), Martine BAGOT (5), Armand BENSUSSAN (16), Eduardo NAGORE (17), Rajiv KUMAR (18), Florent GRANGE (19), Nadem SOUFIR (1, 20)

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. Service d'allergologie, CHU Reims, Reims, France
7. Dermatologie, Reims, Reims, France
8. Dermatologie, Charleville Mezières, Charleville Mezières, France
9. Dermatologie, Muizon, Muizon, France
10. Dermatologie, Rilly La Montagne, Rilly La Montagne, France
11. Service de Dermatologie , Hôpital Ambroise Paré, Boulogne Billancourt, France
12. Service de Dermatologie , Hôpital Tarnier, Paris, France
13. Service de Dermatologie , Hôpital Henri Mondor, Creteil, France
14. Service de Dermatologie , CHU Reims, Reims, France
15. Service de Dermatologie , Chalons en champagne, Chalons en champagne, France
16. U976: centre de recherche sur la peau, Hôpital Saint Louis, Paris, France
17. Dermatologie, Instituto di oncologia, Valencia, Espagne
18. Division of molecular genetic epidemiology, German cancer research center , Heidelberg, Allemagne
19. Service de Dermatologie, CHU de Reims, Reims, France
20. Centre de Recherche sur la peau, Inserm U976, Hôpital Saint Louis, Paris, France

Mots clefs : Melapred, Mélanome, prédisposition

Résumé :

Introduction
Melanoma has a dramatically poor prognosis in case of late diagnosis, emphasizing the critical role of early detection and prevention. We have developed a predictive algorithm able to calculate an individualized melanoma risk by combining clinical and genetic factors (test MELAPRED). We evaluated the acceptability of this test in a pilot study of patients seen in dermatology at hospital or in liberal exercise.
Patients and methods
The MELAPRED test allows the custom calculation of a personalized melanoma risk score using an algorithm incorporating clinical risk factors and genetic melanoma risk factors that has been patented. From April to October 2014, 261 patients were proposed to have the Melapred test, and results were given during a second clinical consultation, with explanations provided on the impact of the test result on clinical management and behavior to wards UV exposure. A questionnaire was given to the patients, evaluating the service and potential impact of MELAPRED result. A questionnaire to physicians was also performed evaluating the usefulness of MELAPRED for high-risk melanoma patients in their daily exercise. An agreement of the local ethic committee has been obtained. Clinical data were collected on datasheet, and salivary DNA was obtained by Oragene kit after information, signature and informed consent.
Results:
The MELAPRED test classified 64% of patients at high risk (which 30% were clinically not at risk), 26% of patients at intermediate risk and 10% at low risk. The survey for the first 163 patients showed a positive evaluation with perception of its usefulness (90%), a clear desire to follow the recommendations of the physicians and to adapt their UV exposition to their melanoma score, a lack of anxiety generated by pending the result of the test. The physicians also had a very good evaluation of the test in terms of easy logistic, and help to survey and monitoring their patients.
Therefore, the MELAPRED test is very well received and considered useful by patients and physicians, and is not cause of concern. Furthermore, the result of the test is likely to influence the photoprotection and screening and increases adherence to physician's recommendations. The MELAPRED test is CE marked and has the authorization of the ANSM (Agence National du Sécurité du Médicament).

Conclusion:

MELAPRED test is well accepted and perceived by patients and physicians. Indications are the identification of high-risk patients and improved screening. MELAPRED is commercialized sinceJuly2015 (www.genepredict.fr) under demagogical or general practitioner prescription. Thanks to MELAPRED test which help us to determinate people at high risk of melanoma, we identified a melanoma at an early stage in a patient who was at high risk.

P292 : La polypose associée à MUTYH. A propos d'une famille marocaine

Auteurs :

meriame abbassi (1), hanane sayel (1), mohammed ahakoud (1), oussama kettani (1), mody diop (1), said tranint (1), ihssane el otmani (1), mohammed el abkari (2, 3), sidi adil ibrahimi (2, 3), el bachir benjelloun (4, 3), laila bouguenouch (1, 3), karim ouldim (1, 3)

1. Génétique Médicale et d'oncogénétique, Centre Hospitalier Universitaire Fès Maroc, fès, Maroc
2. Gastro Hépato Entérologie, Centre Hospitalier Universitaire Fès Maroc, fès, Maroc
3. Faculté de Médecine et de Pharmacie, Univetsité Sidi Mohammed Benabdellah, fès, Maroc
4. Chirurgie viscérale , Centre Hospitalier Universitaire Fès Maroc, fès, Maroc

Mots clefs : polypose associée à MUTYH, MAP, cancer du colon, étude moléculaire, Conseil génétique.

Résumé :

La polypose associée à *MUTYH* « MAP », de description récente, est une affection à transmission autosomique récessive liée à une mutation germinale du gène *MUTYH.* L'expression clinique des mutations bi-alléliques de *MUTYH* est décrite le plus souvent comme une polypose adénomateuse atténuée se révélant à l'âge adulte.
Les mutations Les plus fréquemment décrites dans la population caucasienne sont la Y165C(c.494G > A ; p.Tyr165Cys) et la G382D(c.1145G>A ; p.Gly382Asp) qui représentent à elles seules 90 % des mutations, alors que la mutation c.1185_l 186dup a été rapportée chez deux patients maghrébins. D'autres mutations délétères ont été rapportées mais leur fréquence est mal évaluée et généralement sous-estimée du fait des stratégies d'analyse moléculaire utilisées.
L'objectif de notre travail est d'estimer, par Des méthodes d'épidémiologie moléculaire, la prévalence de la MAP liée à ces trois mutations dans la population marocaine.
Observation
A propos d'une famille marocaine qui consulte pour cancer du colon familial polyposique.
Résultats :
L'analyse génétique à la recherche des mutations récurrentes du gène *MUTYH* a été faite. La mutation c.1185_1186dup (p.Glu396GlyfsX43) à l'état homozygote sur l'exon 13 a été identifiée chez un des membres de la famille atteint d'un cancer du colon. Suite à la demande d'un sujet sain de la même famille, un diagnostic présymptomatique a été effectué revenant positif. A travers notre observation nous illustrons le rôle de l'oncogénétique dans la prise en charge des patients cancéreux et de leurs familles.
Conclusion
Nous projetons d'étendre cette étude à d'autres mutations afin d'estimer la prévalence réelle de ce type de cancer, par la détermination de la fréquence relative de ces trois mutations chez les patients marocains atteint de forme typique de la MAP. En parallèle avec ces études épidémiologiques, la mise en place dans notre laboratoire du diagnostic moléculaire de la MAP, nous permet aujourd'hui une meilleure prise en charge des patients et de leur prodiguer ainsi qu'à leurs apparentés un conseil génétique adapté.

ABBASSI MERIAME abstract MAP.docx

P293 : Les anomalies chromosomiques à l'origine de fausses couches spontanées chez le couple

Auteurs :

Ihsane EL OTMANI (1), S. TRHANINT (1), M. AHAKOUD (1), D. MODY (1), O. KETTANI (1), H. SAYEL (1), M. ABBASSI (2), H. CHAARA (3, 4), MA. MELHOUF (3, 5), K. OULDIM (1, 5), L. BOUGUENOUCH (1, 5)

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, Maroc
3. Service de gynécologie obstétrique,, CHU HASSAN II, Fès, Maroc
4. Service de Gastroentérologie, , Faculté de Médecine et de Pharmacie, Fès, Maroc
5. CHU HASSAN II,, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Fès, Maroc

Mots clefs : maladie abortive, caryotype, remaniement équilibré

Résumé :

Introduction
Les anomalies chromosomiques entrent pour une part non négligeable dans les problèmes de fertilité. L'origine de ces anomalies peut être un problème héréditaire.
D'où après plusieurs FCS, la perte d'enfant in utero, la naissance d'enfant handicapé ou encore la difficulté à concevoir, l'importance et la nécessité de faire divers examens pour en découvrir la cause.
Parmi eux, le bilan du couple d'un point de vue génétique est fait par l'étude du caryotype, afin d'établir si l'un des conjoints est porteur ou non d'une anomalie chromosomique, comme par exemple une translocation, une insertion, une inversion.
Matériels et méthodes
Nous rapportons les résultats de 264 caryotypes réalisés, au niveau du laboratoire de génétique médicale et d'oncogénétique du CHU HASSAN II de Fès, depuis septembre 2009, intéressant 132 couples adressés en consultation pour des fausses couches à répétition, d'un antécédent de nouveau né polymalformé, de maladies abortives, ou d'une stérilité.
Résultats
Les résultats trouvés montrent que 71 % (n=5) des anomalies sont représentées par des translocations (46,XY,t(4 ;8), 46,XY,t(4 ;12), 46,XX,t(13 ;14), 46,XX,t(11 ;12), 46,XX,t(4 ;12 ;14)) et 29% (n=2) sont représentées par le syndrome de turner en mosaïque(45,X[4] /46,XY[12], 45,X[7] /46,XX[22]). 57,14% de ces anomalies sont d'origine féminine.
Conclusion
Les fausses-couches précoces répétées, dont la définition varie selon les auteurs, concernent approximativement 1 % des couples désirant un enfant. Leur prise en charge est beaucoup moins codifiée que celle de la stérilité. Des anomalies du caryotype sont retrouvées chez 4,7 à 6 % des couples ayant fait au moins deux FCP contre moins de 0,5 % dans la population générale essentiellemnt des remaniements équilibrés ou des anomalies concernant les chromosomes sexuels. Le caryotype du couple est systématiquement réalisés devant deux fausses couches successives permettant ainsi de prodiguer au couple un conseil génétique adéquat.

Les anomalies chromosomiques chez le couple.docx

P294 : Les anomalies chromosomiques les plus communes dans les défauts de la migration neuronale

Auteurs :

meriam hadj amor (1), Sarra Dimassi (1), Hela Ben Khlifa (1), Nejla Soyah (2), Adnene Mlika (2), jamel Chelly (3), Ali Saad (1), 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
3. Institut de génétique et de biologie moléculaire et cellulaire, IGBMC, strasbourg, France

Mots clefs : trouble de la migration neuronale, le gène LIS1, le gène DCX, le gène TUPLE1, FISH, CGH array, le séquençage haut débit

Résumé :

Le développement cortical est le résultat de différents processus qui sont la neurogenèse, la migration et la différentiation neuronale. La perturbation de l'un de ces processus entraine des troubles de migration neuronale qui peuvent être l'une des manifestations d'un syndrome ou peuvent s'intégrer dans un tableau d'aberrations chromosomiques. En effet, un large nombre de régions chromosomiques et de gènes ont été rapportées.
Notre étude a porté sur 6 cas présentant des troubles de migration neuronale et qui ont des caractéristiques en commun incluant une épilepsie et une dysmorphie faciale associant un large spectre de troubles y compris une lissencéphalie et une polymicrogyrie. Tous les patients ont été explorés par un caryotype conventionnel, une hybridation *in situ* fluorescente (FISH) et hybridation comparative sur puces à ADN (CGH array).
5 anomalies chromosomiques de type microdélétion ont été mises en évidence par FISH dont 1 en 22q11.2 englobant le gène *TUPLE1*, 1 en Xq23 englobant le gène *DCX* et 3 en 17p13.3 englobant le gène *LIS1*. Une de ces 3 délétions 17p13.3 est secondaire à une mal ségrégation adjacent 1 d'une translocation réciproque maternelle (3p26.2 ; 17p13.3). Alors que les 2 autres délétions 17p13.3 sont de novo. Pour une meilleure caractérisation de la délétion 17p13.3 héritée, la CGH array a permis de déterminer une délétion de 2,9 Mb entre les positions génomiques 48539pb et 2976723pb. D'un autre coté la CGH a été indiquée dans un cas syndromique de lissencéphalie et qui a mis en évidence une délétion de seulement 11Kb en 17p13.3 englobant *LIS1*. Cependant, le séquençage haut débit couplé à une capture ciblée a confirmé cette délétion qui s'étend de l'exon 3 jusqu'à l'exon 11 du gène *LIS1*.
Les individus présentant des troubles de la migration neuronale sont caractérisés par une variabilité clinique, vraisemblablement dû à la variabilité et la sévérité des causes génétiques identifiées dans environ 50% des cas. Cependant, les différents types de ces troubles sont parfois intriqués et chevauchantes cliniquement et génétiquement. Il est important de noter qu'une délétion 17p13.3 englobant le gène *LIS1* et une délétion Xq23 englobant le gène *DCX* sont les anomalies chromosomiques les plus communes dans ces troubles. Ces 2 gènes codent pour des protéines de régulation du cytosquelette des microtubules. Mais, avec les dernières avancées technologiques, il serait possible qu'une grande hétérogénéité de ces troubles s'associe à des mutations dans un même gène. Alors que la pathogénie de la polymicrogyrie secondaire à la délétion 22q11.2 est inconnue. Mais, il est très probable que cette délétion soit causée par l'haplo-insuffisance du gène *TBX1* qui participe dans divers processus de développement, particulièrement le développement des vaisseaux et donc un impact sur le développement des vaisseaux cérébraux. Cependant, ces données seraient propices pour une bonne corrélation génotype-phénotype.

abstract-assises-2018-MHA-version2.docx

P295 : Le syndrome de thrombopénie avec agénésie radiale (TAR) : à propos d'un cas associant une délétion 1q21.1 à un SNP du gène RBM8A

Auteurs :

Sarra Dimassi (1), Hela Ben Khlifa (1), Jessica Michel (2), Eudeline Alix (2), Fatma Turki (1), Gaetan Lesca (2), Mohamed Bejaoui (3), Soumaya Mougou (1), Damien Sanlaville (2), Ali Saad (1)

1. 1- Service de Cytogénétique et de Biologie de la reproduction, CHU- FartahtHached , Sousse, Tunisie, Sousse, Tunisie
2. 3- Laboratoire de cytogénétique constitutionnelle et prénatale, service de biologie médicale multi sites, centre de biologie et de pathologie est, Lyon, France, Lyon, France
3. 2- Service d'immuno-hématologie pédiatrique, centre national de greffe de moelle osseuse, Tunis, Tunisie

Mots clefs : Thrombopénie, agénésie radiale, RBM8A, 1q21.1

Résumé :

Le syndrome TAR ou thrombopénie avec agénésie radiale associe une thrombopénie et une absence bilatérale de radius sans atteinte du pouce. Récemment, le syndrome TAR a été décrit de cause autosomique récessive associant un allèle nul à un SNP non codant du gène *RBM8A*.
Nous rapportant le cas d'un nourrisson de 6 mois, adréssé au Service de Cytogénétique et de Biologie de la Reproduction du CHU Farhat Hached de Sousse, présentant une double agénésie radiale avec préservation des pouces et une thrombopénie. Le caryotype standard en bandes R était revenu normal. L'hybridation comparative sur puce à ADN (CGH array, 40Kb) a montré une microdélétion de 2,5Mb en 1q21.1 allant de 143639135 à 146201635pb (hg18) contenant le gène *RBM8A.* Le séquençage Sanger a montré une transversion en 5'UTR (c.-21G > A) au niveau du gène *RBM8A*, hérité du père.
La microdéléltion 1q21.1 est une condition nécessaire mais non suffisante dans l'étiopathogénie du syndrome TAR. En effet, le syndrome TAR associe un allèle nul du gène RBM8A (délétion, mutation avec décalage du cadre de lecture, mutation stop) à un des SNP rares et non codants (rs139428292 G > A au niveau de la région 5'UTR; ou rs201779890 G > C localisé au niveau du premier exon du gène). Le gène RBM8A code pour la protéine Y14, sous unité du complexe de jonction exonique et joue un rôle crucial dans le développement embryonnaire. L'association de l'allèle nul et du SNP du gène RBM8A réduit l'expression de Y14 au niveau plaquettaire mais n'explique pas les anomalies squelettiques et les autres composantes du syndrome. D'autres gènes au niveau de la région 1q21.1 peuvent influencer l'expression phénotypique du syndrome TAR.

P296 : L'Inversion péricentrique du chromosome 9, du polymorphisme cytogénétique à la pathologie : à propos de 4 cas et revue de la littérature

Auteurs :

Hamza Hadj Abdallah (1), Ali Saad (1), Sarra Dimassi (1), Afef Jelloul (1), Samah Khammeri (2), Latifa Lassoued (3), Faouzi Karoui (4), Naoufel Gaddour (5), Hedi Khairi (3), Khaled Ben Hlel (2), Soumaya Mougou-Zrelli (1)

1. Service de cytogénétique et de Biologie de la reproduction , CHU Farhat Hachad Sousse, Sousse, Tunisie
2. Service de Pédiatrie, CHU Ibn Eljazzar , Kairouan, Tunisie
3. Service Gynécologie, CHU Farhat Hachad Sousse, Sousse, Tunisie
4. Service Gynécologie, cabinet de libre pratique, Sousse, Tunisie
5. Service de Pédopsychiatrie , CHU Fattouma Bourguiba, Monastir, Tunisie

Mots clefs : inversion péricentrique , chromosome 9 , syndrome polymalformatif , avortement à répititions , stérilité primaire , diagnostic prénatal .

Résumé :

Introduction :
L'inversion péricentrique du chromosome 9 représente une des variants chromosomiques les plus communs. Son incidence varie selon les séries entre 1-3 % dans la population générale. Considérée comme un variant chromosomique « bénin »,elle a été néanmoins décrite associée à des troubles de la fertilité, aux avortements à répétitions, et à des syndromes polymalformatifs.
Matériel :
Nous rapportons dans ce travail,4 patients adressés au service de Cytogénétique et de Biologie de la Reproduction du CHU Farhat Hached de Sousse entre les années 2016 et 2017 pour exploration cytogénétique postnatale d'un cas de retard statural, d'un deuxième cas d'avortements à répétition et d'un troisième cas d'autisme. Le quatrième cas nous a été adressé pour exploration cytogénétique prénatale d'un risque combiné accru de trisomie 21 (1/63).

Méthode :
Le caryotype standard en bande R a été effectué sur culture lymphocytaire pour les 3 cas explorés en postnatal et sur culture de liquide amniotique pour le cas de prénatal.
Résultats :
Une inversion péricentrique du chromosome 9 entre les bandes p11 et q12 a été mise en évidence chez les quatre patients. L'inversion retrouvée sur le caryotype prénatal a été mise en évidence chez la mère attestant de son caractère hérité. Les deux autres cas étaient *de-novo,* le troisième est en cours d'exploration.
Discussion :
Les polymorphismes chromosomiques représentent des variations chromosomiques « bénignes » sans traduction phénotypique. L'inversion péricentrique du chromosome 9 a été considérée par certains comme un polymorphisme cytogénétique. Les phénotypes des patients ayant une inversion péricentrique du chromosome 9 varient du phénotype normal aux syndromes polymarformatifs plus ou moins sévères. Ces inversions ont été associées de façon significative aux avortements à répétitions avec une incidence allant jusqu'à 30.6 %. L'association aux infertilités masculines a été suggérée par certaines études sans qu'il y ait une association statistiquement significative. Ces inversions seraient à l'origine de perturbations de la spermatogenèse avec une probabilité allant de 1-10% selon les séries. Le risque d'aneuploidies (Trisomie 21) dans la descendance des sujets porteurs de l'inversion a été constatée .Une association aux retards de croissance intra-utérin et postnataux a récemment été décrite. Plusieurs séries ont montré l'association des inversions péricentriques du chromosome 9 aux polydactylies, malformations cardiaques et digestives. Les deux points de cassures 9p11 et 9q12 ont également été rapporté dans l'autisme. L'implication de cette inversion dans les phénotypes pathologiques reste incertaine d'où la difficulté de son interprétation en prénatal. L'étude cytogénétique et moléculaire des points de cassures de cette inversion chromosomique et le rôle de l'hétérochromatine seraient certainement d'un grand apport dans la corrélation génotype-phénotype.

P297 : Prévalence des mutations délétères dans une série de 2800 patients de la région PACA – Corse et caractéristiques des cancers du sein associés

Auteurs :

Cornel Popovici (1, 2), Catherine Nogues (2), François Eisinger (2), Jessica Moretta-Serra (2), Pauline Ries-Guye (2), Hélène Dreyfus (3), Véronique Mari (4), Xavier Tchiknavorian (5), Hélène Zattara (6), Doriane Livon (2), Baptiste Antunes (2), Julie Martinez (3), Catherine Gensollen-Thiriez (6), Ghislain Bidaut (1, 7), Quentin Da Costa (1), Béatrice De Clercq (4), Violaine Bourdon-Huguenin Virchaux (1), Tetsuro Boguchi (1), Audrey Remenieras (1), Hagay Sobol (1, 2)

1. Laboratoire d'Oncogénétique Moléculaire, Institut Paoli-Calmettes, Marseille, France
2. DASC, Oncogénétique Clinique, Institut Paoli-Calmettes, Marseille, France
3. Consultations d'Oncogénétique, Institut Sainte Catherine, Avignon, France
4. Consultations d'Oncogénétique, Centre Antoine Lacassagne, Nice, France
5. Consultations d'Oncogénétique, Centre Hospitalier Toulon, Toulon, France
6. Département de Génétique Médicale, Hôpital de la Timone, AP-HM, Marseille, France
7. Plateforme Bioinformatique Intégrative Cibi, Inserm-CNRS-Université Aix-Marseille, Marseille, France

Mots clefs : PALB2, cancer du sein, prédisposition génétique

Résumé :

Les patients porteurs d'une mutation constitutionnelle perte de fonction dans un gène majeur de prédisposition tel que *BRCA1*, *BRCA2* ou *PALB2* ont un risque très élevé de développer un cancer du sein ou de l'ovaire. Les mutations du gène *PALB2* sont beaucoup plus rares que celles des gènes *BRCA1*/2 et l'épidémiologie génétique ainsi que les caractéristiques des tumeurs associées sont encore mal définies.
L'étude porte sur une série de 2800 patients, cas index non porteurs d'une mutation *BRCA1/2*, dont l'analyse moléculaire du gène *PALB2* a été réalisée entre 2010 – 2017 au Laboratoire d'Oncogénétique Moléculaire de l'Institut Paoli-Calmettes. Les patients ont bénéficié d'une consultation d'oncogénétique dans la région PACA-Corse.
L'analyse du gène *PALB2* a été réalisée soit en séquentiel, par la technique Sanger, soit comme analyse initiale par la technique NGS sur panel de gènes. 26 patients porteurs d'une mutation perte de fonction ont été identifiés (environ 1% des patients analysés) : 23 patients (81,5%) porteurs d'une mutation ponctuelle et 3 (11,5%) porteurs d'un réarrangement de grande taille. Aucun de ces patients n'est porteur d'une mutation dans les gènes BRCA1/2. 24 patientes ont présenté un cancer du sein entre 29 et 60 ans, une patiente a été diagnostiquée avec cancer de l'ovaire à 70 ans et un cancer de la prostate à 60 ans. Parmi les patientes avec cancer du sein 42% ont eu un deuxième cancer (controlatéral ou ipsilatéral), contrairement à environ 15% pour la cohorte entière.
L'âge moyen au diagnostic pour le cancer du sein dans ce groupe est de 45,3 ans, avec une médiane de 43 ans. Bien que les variations de l'âge minimum ou maximum au diagnostic ne soient pas significatives entre les sous-groupes avec cancer unique et avec un deuxième cancer du sein (30 – 60 ans *versus* 29 – 59 ans), l'âge au diagnostic est plus précoce chez les patientes ayant deux cancers du sein comparé à l'âge aux patientes avec cancer unique (moyenne de 42,9 ans contre 47,1 ans et médiane de 41,5 ans contre 46,5 ans).
Les caractéristiques anatomopathologiques des tumeurs des patientes avec mutation *PALB2* sont proches des caractéristiques observées dans les cancers du sein post-ménopausiques : carcinomes canalaires infiltrants de grade intermédiaire, exprimant les récepteurs hormonaux, sans surexpression de *HER2*. Toutefois, chez certaines patientes des tumeurs de grade 3 ou des tumeurs triples négatives peuvent être identifiées.
En conclusion, dans notre cohorte une mutation du gène *PALB2* est retrouvée chez 1% des patientes. Les caractéristiques des tumeurs sont proches de celles décrites pour les mutations *BRCA2*. La proportion importante de patientes avec un deuxième cancer du sein retrouvée dans notre cohorte pourrait s'expliquer par un biais de recrutement.

P298 : Profil cognitif dans le syndrome de Silver-Russell : une première étude française chez les adultes

Auteurs :

Mélissa Burgevin (1), Agnes Lacroix (1), Annick Toutain (2, 3), Dominique Martin-Coignard (4), Vincent Marie (5), Caroline Crosnier-Schoedel (6, 7), Virginie Coutinho (8, 9), Irène Netchine (6, 7), Sylvie Odent (10, 11)

1. Laboratoire de Psychologie, Cognition, Comportement et Communication (EA 1285), Université Rennes 2, Rennes, France
2. Service de Génétique Médicale, CHRU de Tours - Hôpital Bretonneau, Tours, France
3. INSERM UMR U930, Université François Rabelais, Faculté de Médecine, Tours, France
4. Service de Génétique, CH du Mans, Le Mans, France
5. Service de Génétique Médicale, CHU de Nantes, Nantes, France
6. Service d'explorations Fonctionnelles Endocriniennes, Hôpitaux Universitaires Paris Est (AP-HP), Hôpital des Enfants Armand Trousseau, Paris, France
7. INSERM UMR S938, Centre de Recherche Saint Antoine, Paris, France
8. Service de Neuropédiatrie, Hôpitaux Universitaires Paris Est (AP-HP), Hôpital des Enfants Armand Trousseau, Paris, France
9. INSERM U1018, Centre de Recherche en Épidémiologie et Santé des Populations, Villejuif, France
10. Service de Génétique Clinique, CHU de Rennes, Rennes, France
11. CNRS UMR 6290, Université Rennes 1, Rennes, France

Mots clefs : Syndrome de Silver-Russell, épigénétique, adultes, profil intellectuel

Résumé :

Le syndrome de Silver-Russell (SSR, OMIM #180860) est une maladie rare qui associe un retard de croissance intra-utérin et post-natal, un périmètre crânien relativement préservé à la naissance, un front proéminent pendant l'enfance, une asymétrie corporelle et des difficultés d'alimentation (Wakeling et al., 2017). Un défaut de méthylation au niveau du locus *IGF2/H19* dans la région 11p15 est présent dans environ 50% des cas (Netchine et al., 2007 ; Wakeling et al., 2017). Le SSR est de phénotype variable en fonction de l'étiologie moléculaire et de la sévérité du syndrome. Les études conduites jusqu'à présent se sont principalement concentrées sur les particularités génétiques et physiques, mais peu sur les caractéristiques cognitives. Pourtant le devenir cognitif des enfants SSR à l'adolescence et l'âge adulte représente une préoccupation considérable pour les familles. À notre connaissance, seules trois études ont documenté le développement cognitif des enfants SSR, mais il s'agit d'études anciennes dans lesquelles les patients étaient diagnostiqués uniquement selon des critères cliniques non standardisés (Lai et al., 1994 ; Noeker & Wollmann, 2004 ; Sieńko et al., 2010). Aucune étude n'est publiée concernant l'évaluation du fonctionnement intellectuel des adultes.
Objectif : investiguer l'efficience intellectuelle des adultes SSR à l'aide d'un outil standardisé.
Méthode : 6 adultes SSR (présentant une épimutation de la région 11p15), âgés de 20 à 23 ans, ont été inclus. Chaque patient a complété l'échelle d'intelligence de Wechsler pour adultes (WAIS-IV, Weschler, 2011). Le Quotient Intellectuel Total (QIT) a été calculé et les indices (Compréhension Verbale ICV, Raisonnement Perceptif IRP, Mémoire de Travail IMT et Vitesse de Traitement IVT) ont été comparés deux à deux. Pour déterminer les différences significatives entre les indices, nous nous sommes référés au manuel de la WAIS-IV, au seuil de significativité $p < 0.05$.
Résultats : Tous étaient titulaires d'un baccalauréat et 67% poursuivaient des études dans l'enseignement supérieur. 50% ont bénéficié d'un traitement par hormone de croissance et 83% ont bénéficié de prises en charge rééducatives et/ou psychologiques. Le QIT moyen était de 93.83 (ET= 13.31) : l'efficience intellectuelle s'étendait de la normalité à la zone limite chez une personne. L'ICV était en moyenne supérieur aux autres indices (M= 108.66 ; ET= 19.79).
Conclusion : les adultes SSR présentaient globalement une efficience intellectuelle normale ainsi que des parcours de vie positifs. Si un plus grand nombre de patients à étudier est nécessaire pour objectiver ces résultats, ces derniers permettent d'améliorer les connaissances sur le SSR et soulignent l'importance d'une prise en charge précoce et multidisciplinaire de l'enfance à l'âge adulte dans le syndrome de Silver-Russell.

#12606 - Mélissa Burgevin - Profil cognitif dans le syndrome de Silver-Russell.docx

P299 : Consultation génétique, famille et grands-parents : perturbations dans les filiations

Auteurs :

Béatrice CHILDS (1)

1. GENETIQUE MEDICALE, INSTITUT IMAGINE, PARIS, France

Mots clefs : consultation génétique en binôme, maladie génétique, filiations, violence, grands-parents, modes de transmission, construction du sujet, réaménagements

Résumé :

La consultation génétique fait violence à la famille, aux filiations, à la filiation du sujet, construite ou en cours d'élaboration. Les réalités génétiques viennent perturber l'équilibre de la filiation subjective (souvent précaire) procédant de la combinaison psychique des représentants des facteurs biologiques, narcissiques et symboliques. A partir de situations souvent dramatiques, le dispositif de la consultation appréhende le présent, interroge le passé, pour un avenir qu'il voudrait toujours meilleur. À la lumière de consultations génétiques familiales, où généticien et psychanalyste reçoivent *en binôme* les jeunes consultants et leurs familles, on tentera de comprendre le retentissement d'une maladie génétique et la façon dont le sujet ou le patient pédiatrique devra, dans un moment de crise identitaire et de menace de rupture, réaménager les contours de sa propre filiation. La maladie des enfants et le désir de savoir révèlant ainsi une inquiétude qui ne tarde pas à se porter sur les ascendants, premiers grands Autres interrogés et parfois attaqués, au titre de parents ou de grands-parents qu'ils sont devenus ou qu'ils deviendront.

P300 : Les données secondaires issues d'un séquençage haut débit d'exome et de génome

Auteurs :

Elodie Gautier (1), Laurent DEMOUGEOT (2), Frédéric TRAN MAU-THEM (3), Sébastien MOUTTON (4), Nada HOUCINAT (4), Maxime PERRIN (5), Philippe MAYADE (5), David GENEVIEVE (6), Pascal PUJOL (6), Christophe Philippe (3), Christel THAUVIN (1, 2), Laurence Faivre (1, 4)

1. FHU TRANSLAD, CHU Dijon, Dijon, France
2. Filière de santé maladies rares AnDDI-rares, CHU Dijon, Dijon, France
3. UMR 1231 équipe GAD, Génétique des Anomalies du Développement, Univ. Bourgogne Franche-Comté, Dijon, France
4. Centre de référence Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs, CHU Dijon, Dijon, France
5. Eduter, AGROSUP, Dijon, France
6. SFMPP, CHU Montpellier , Montpellier, France

Mots clefs : Données secondaires, Séquençage Haut Débit, exome, génome, film

Résumé :

Lors de l'utilisation du séquençage haut débit d'exome (WES) et de génome (WGS), il existe un risque d'être confronté à des données secondaires (DS), qui correspondent à des résultats génétiques sans rapport avec la question du bilan diagnostique d'un individu mais qui présentent un intérêt médical potentiel immédiat ou à distance pour le patient ou pour sa famille.
Le besoin d'un film pour faire comprendre ces données issues d'un WES/WGS est né de la difficulté des médecins à les expliquer facilement sans support dédié, alors que ces technologies sont en phase de révolutionner le diagnostic génétique des maladies rares. Avec la généralisation attendue de ces nouvelles technologies dans le cadre de la mise en place du Plan France Médecine Génomique 2025, il est important de mettre en place des outils pour faciliter la compréhension des patients et de leur famille, en particulier pour qu'un patient (ou sa famille) puisse faire un choix le plus éclairé possible concernant l'accès ou non à ses DS.
On retrouve ici le même personnage (Bobby) que dans le film d'animation « Diagnostic des maladies rares : l'apport du séquençage nouvelle génération » (https://www.youtube.com/watch?v=fZQfpE67pcI). A partir d'une consultation médicale dans laquelle il s'engouffre, le personnage nous conduit avec lui dans sa soif de comprendre. Il observe alors un séquenceur à partir duquel on comprend qu'il existe deux catégories de données possibles dans le cadre d'une analyse de WES/WGS: les données primaires, raison pour laquelle un séquençage a été demandé ; et les DS - résultat auquel le patient aura choisi d'accéder - qui sont des facteurs de risques génétiques pour certaines maladies qui seront susceptibles de se développer plus tard au cours de la vie, sans rapport avec la maladie initiale.
Au travers d'un focus sur les DS, le personnage va nous apprendre que seuls les résultats concernant des maladies accessibles à des mesures de surveillance, de prévention ou de traitement peuvent être rendues. On appelle ces résultats des données actionnables, et avoir une variation dans l'un des gènes étudiés concerne environ 2% des patients.
Le film se termine par une consultation auprès d'un généticien qui reprend les avantages et les inconvénients d'accéder à ces DS et insiste sur le fait que le patient (ou ses parents, le cas échéant) prend lui-même la décision d'accéder à ses données secondaires.
Ce film a été financé par la Société Française de Médecine Prédictive (SFMPP), co-produit par la Fédération Hospitalo-Universitaire TRANSLAD et la Filière de Santé maladies rares Anomalies du Développement et Déficience Intellectuelle de causes Rares (AnDDI-Rares), et réalisé par Agrosup Dijon - Eduter Signes. Ce film est téléchargeable à partir de la cinémathèque du site de la filière AnDDI-Rares : http://www.anddi-rares.org.

P301 : Identification de nouveaux SNPs associés au risque de cancer du sein chez les porteuses d'une mutation sur les gènes BRCA1 ou BRCA2 : intérêt de l'analyse de l'effet joint des SNPs et des mutations BRCA1/2

Auteurs :

Juliette COIGNARD (1), Joe DENNIS (2), Michael LUSH (2), Jacques SIMARD (3), Georgia CHENEVIX-TRENCH (4), Douglas EASTON (2, 5), Nadine ANDRIEU (1), Antonis ANTONIOU (2)

1. , INSERM U900, Institut Curie, MInes ParisTech, Paris, France
2. Centre for Cancer Genetic Epidemiology, Department of Public Health and Primary Care, University of Cambridge, Cambridge, Royaume Uni
3. Centre de Génomique, Centre de recherche du CHU de Québec-Université Laval, Québec, Canada
4. Cancer Division, QIMR Berghofer Medical Research Institute, Brisbane, Australie
5. Centre for Cancer Genetic Epidemiology, Department of Oncology, University of Cambridge, Cambridge, Royaume Uni

Mots clefs : Epidémiologie, Cancer du sein, Facteurs de risque, Gènes BRCA1 et BRCA2, SNPs modificateurs

Résumé :

Les antécédents familiaux de cancer du sein (CS) sont un facteur de risque majeur de cette maladie et environ 20% du risque familial est attribué à une mutation fortement pénétrante dans les gènes BRCA1 ou BRCA2. Il a été montré que le risque de développer un CS varie de 30 à 80% pour les porteuses d'une mutation de BRCA1 et de 9 à 84% pour les porteuses d'une mutation de BRCA2. Ces variations dans l'estimation du risque absolu peuvent être dues à des facteurs environnementaux et/ou génétiques modifiant le risque de cancer. À ce jour, plus de 270 polymorphismes fréquents, ou « SNPs » (Single Nucleotide Polymorphisms), ont été associés au risque de CS dans la population générale. Seule une cinquantaine ont été mis en évidence spécifiquement chez les porteuses d'une mutation BRCA1/2 et ces SNPs n'expliquent qu'une petite fraction de la composante familiale résiduelle.
Ce projet a pour but d'identifier de nouveaux SNPs associés au risque de CS chez les porteuses d'une mutation BRCA1/2 et d'évaluer l'effet des SNPs trouvés associés au CS dans la population générale chez ces dernières. Afin d'augmenter significativement la puissance de cette recherche, nous avons mis en place une stratégie d'analyse « case-only » qui compare la fréquence des SNPs chez les cas porteurs d'une mutation BRCA1/2 à celle de cas de la population générale. Au total, 12000 femmes porteuses d'une mutation BRCA1/2 du consortium CIMBA (Consortium of Investigators of Modifiers of BRCA1/2) et plus de 58000 femmes de la population générale du consortium BCAC (Breast Cancer Association Consortium), toutes atteintes de CS, ont été incluses. Le génotypage a été réalisé avec les puces iCOGS et Oncoarray (ciblant respectivement ~200K et ~530K SNPs) et l'imputation d'environ 11 millions de SNPs a été effectuée en utilisant la base de données 1000Génome comme panel de référence. Les analyses sont effectuées de façon indépendante pour les porteuses BRCA1 et BRCA2. Cette approche nous a permis d'identifier un nouveau locus en 2p14 comme un potentiel modificateur du risque de CS chez les porteuses BRCA2. Ce locus contient un variant faux-sens dans le gène ETAA1 impliqué dans la réparation de l'ADN. Trois nouveaux loci potentiels ont aussi été mis en évidence (en 6q16.3, 16q22.1 et 17q21.31) chez les porteuses BRCA2. Contrairement aux tumeurs BRCA2 et aux tumeurs « sporadiques » qui expriment majoritairement les récepteurs aux œstrogènes (RO+), 75% des tumeurs BRCA1 sont RO-. C'est pourquoi nous prenons en compte le statut RO dans les analyses en cours. En parallèle, nous poursuivons l'étude de l'effet des SNPs identifiés dans la population générale chez les porteuses d'une mutation BRCA1/2.
Une meilleure caractérisation des SNPs associés au risque de CS chez les femmes porteuses d'une mutation sur BRCA1 ou BRCA2 permettra d'améliorer la prise en charge et le suivi de ces femmes avec, entre autre, le développement d'un score de risque polygénique spécifique à cette population à haut risque.

P302 : Présentation anténatale du syndrome d'Aicardi-Goutières : Existe-t-il des caractéristiques phénotypiques accessibles au diagnostic prénatal ?

Auteurs :

Nicolas BOURGON (1), Mathilde LEFEBVRE (2, 3), Julien THEVENON (2, 4), Paul KUENTZ (2, 4), Martin CHEVARIN (2, 4), Thibaud JOUAN (2, 4), Charlotte POE (2, 4), Yannis DUFFOURD (2, 4), Emilie TISSERANT (2, 4), Ange-Line BRUEL (2, 4), Antonio VITOBELLO (2, 4), Frederic TRAN MAU-THEM (2, 4), Christophe PHILIPPE (2, 4), Thierry ROUSSEAU (5, 6), Nicole LAURENT (7, 6), Laurence FAIVRE (2, 4), Christel THAUVIN-ROBINET (2, 4)

1. INSERM UMR 1231, Equipe Génétique des Anomalies du Développement, Université de Bourgogne, Dijon Cedex, France
2. INSERM UMR 1231, Equipe Génétique des Anomalies du Développement, Université de Bourgogne, Dijon, France
3. Centre de Génétique Médicale, CHU Dijon Bourgogne, Dijon, France
4. Fédération Hospitalo-Universitaire Médecine Translationnelle et Anomalies du Développement, CHU Dijon Bourgogne, Dijon, France
5. Service de Gynécologie-Obstétrique, Médecine Foetale et Stérilité Conjugale, CHU Dijon Bourgogne, Dijon, France
6. Centre Pluri-Disciplinaire de Diagnostic Pré-Natal, CHU Dijon Bourgogne, Dijon, France
7. Service de Pathologie, CHU Dijon Bourgogne, Dijon, France

Mots clefs : Diagnostic prénatal, syndrome d'Aicardi-Goutières, syndrome pseudo-TORCH, PCDH12, séquençage haut débit d'exome

Résumé :

La découverte d'anomalies morphologiques cérébrales et extra-cérébrales (associées ou isolées) au cours de la période anténatale doit faire suspecter une infection fœtale congénitale (notamment à CMV). Cependant, en l'absence d'infection et en cas de récurrence dans la fratrie et/ou de consanguinité, certaines pathologies monogéniques doivent-être recherchées : syndrome d'Aicardi-Goutières (AGS), syndrome pseudo-TORCH, et phénotypes secondaires aux variants de *PCDH12* ou de *JAM3*. La présentation anténatale d'AGS est rarement rapportée dans la littérature. Après avoir identifié un variant pathogène homozygote du gène *TREX1* par séquençage haut débit d'exome (WES) chez un fœtus présentant un phénotype mimant une infection congénitale, nous avons colligé l'ensemble des cas anténataux d'AGS publiés.
Au total, parmi les 5 fœtus, 3 présentaient à l'échographie un syndrome polymalformatif associant des anomalies cérébrales et extra-cérébrales et 2 des anomalies cérébrales isolées. Les anomalies cérébrales étaient : des calcifications périventriculaires ou des noyaux gris centraux (3/5), une ventriculomégalie (2/5), une microcéphalie (2/5). Les anomalies digestives regroupaient une ascite (2/5), une hépatosplénomégalie (2/5), un intestin hyperéchogène (2/5). L'absence de signes biologiques d'infection congénitale et l'élévation de l'aIFN dans le sang foetal ont conduit à évoquer le syndrome d'AGS chez 3/5 fœtus (dont un sans antécédent dans la fratrie) en période anténatale, à l'origine de 2 interruptions médicales de grossesse et 1 mort fœtale in-utero. L'examen foetopathologique a permis d'identifier, en plus des données échographiques, une hépatosplénomegalie (1/3) et une microcéphalie congénitale associée à une lissencéphalie et des calcifications cérébrales (1/3). Pour les deux grossesses menées à terme, l'encéphalopathie a débuté en période néonatale immédiate pour le premier enfant et à 6 mois de vie pour le second. L'imagerie cérébrale postnatale a permis d'identifier chez ces deux enfants une microcéphalie et des calcifications cérébrales. Quatre variants pathogènes homozygotes ont été identifiés (2 variants tronquants de *TREX1*, 1 variant faux-sens de *RNASEH2A* et 1 variant faux-sens de *RNASEH2B*), tous hérités de parents hétérozygotes.
Nous avons comparés ces données aux formes anténatales rapportées de syndrome pseudo-TORCH et de phénotypes secondaires aux variants de *PCDH12*. L'hétérogénéité clinique et le chevauchement phénotypique importants ne permettent pas d'identifier de signes morphologiques au cours de la période anténatale pour orienter la démarche diagnostique. En cas de phénotype anténatal mimant une infection congénitale, avec un bilan infectieux normal, la question de réaliser un panel de gènes comprenant l'ensemble des gènes responsables du syndrome d'AGS et de ces diagnostics différentiels, voire un WES, doit donc se poser d'autant plus en cas de récidive dans une même fratrie.

P303 : Troubles de la cognition sociale dans le syndrome de Williams : trouble du jugement de confiance en Eye-Tracking et EEG et présentation du programme de remédiation cognitive RC KID

Auteurs :

Caroline DEMILY (1), Alice GOMEZ (2), Manuela COSTA (2), Emilie FAVRE (3), Aurore MOREL (3), Guillaume LIO (2), Alice POISSON (1), Aurélia BERTHOLET-THOMAS (4), Massimiliano ROSSI (5), Angela SIRIGU (2)

1. Centre de Référence GénoPsy, Centre hospitalier le Vinatier, Lyon, France
2. UMR 5229 , Institut Marc Jeannerod, CNRS et Université Lyon 1, Bron, France
3. Centre de Référence GénoPsy, Centre hospitalier le Vinatier, Bron, France
4. Néphrologie pédiatrique, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
5. Service de Génétique Clinique, Hospices Civils de Lyon-Groupement Hospitalier Est, Lyon, France

Mots clefs : syndrome de Williams, reconnaissance émotionnelle, cognition sociale, jugement de confiance, EEG, Eye Tracking, remédiation cognitive

Résumé :

Les patients porteurs du syndrome de Williams (WS) présentent une personnalité marquée par une appétence sociale non sélective et un langage particulièrement expressif. Paradoxalement, ils présentent des difficultés dans la réciprocité sociale similaire à celles des enfants avec troubles du psectre autistique. Des troubles spécifiques de la perception sociale pourraient jouer un rôle dans cette facilité d'approche d'autrui (avec une préférence pour l'adulte) mais il est important de souligner que les profils cognitifs et les habilités sociales dans le WS sont plutôt hétérogènes. Les patients présentent une attirance exacerbée pour les visages, notamment le regard, avec une reconnaissance des expressions faciales qui est altérée.
Une des composantes fondamentales dans le traitement de l'information sociale est le jugement de confiance. Il faut en moyenne à un individu 30 millisecondes pour déterminer le degré de confiance qu'inspire un visage, il s'agit du jugement de « *première intention* ». Les trois études qui seront présentées vise la caractérisation en Eye Tracking et en EEG (haute résolution par localisation de sources spécifiques-128 électrodes) du jugement de confiance dans le WS (en condition implicite -spontanée- et explicite -avec consignes-).
Des troubles du jugement de confiance (exploration atypique en Eye-Tracking) sont documentés de manière généralisés chez les enfants WS dans les trois études. Ce déficit est sous tendu par une activité spécifique du sillon temporal supérieur (en EEG haute resolution avec localisation de source), région déjà impliquée dans les troubles du spectre autistique.
L'analyse de ces résultats a permis l'élaboration d'un nouveau programme de remediation cognitive utilisant pour la première fois l'Eye Tracker comme outil de soin. Le programme RC KID vise la rééducation de la cognition sociale (reconnaissance des émotions faciales, jugement de confiance et théorie de l'esprit). Il s'agit du premier programme développé pour l'ensemble des troubles de la cognition sociale chez l'enfant. Il pourrait donc trouver sa place dans l'arsenal thérapeutique du syndrome de Williams mais aussi des troubles du spectre autistique et plus généralement pour la prise en charge des troubles du neurodéveloppement avec atteinte de l'ajustement social.

P304 : Le savoir doit-il s'imposer ? Un enjeu majeur de la génétique haut débit.

Auteurs :

Bertrand Isidor (1), Sophie Julia (2), Pascale Saugier-Veber (3), Stéphane Bezieau (1), Eric Bieth (2), Jean Paul Bonnefont (4), Patrick Calvas (2), Nicolas Chassaing (2), Benjamin Cogne (1), Delphine Dupin-Deguine (2), Damien Haye (5), Delphine Héron (5), Sylvie Manouvrier (6), Cyril Mignot (5), Julie PLAISANCIE (2), Laurent Pasquier (7), Mathilde Nizon (1), Marie Vincent (1)

1. , CHU de Nantes, Nantes, France
2. , CHU de Toulouse, Toulouse, France
3. , CHU de Rouen, Rouen, France
4. , Hopital Necker, Paris, France
5. , Hôpital La Pitié Salpétrière, Paris, France
6. , CHU de Lille, Lille, France
7. , CHU de Rennes, Rennes, France

Mots clefs : données secondaires, séquençage haut-débit, éthique

Résumé :

Longtemps réservée au domaine des maladies rares, la génétique médicale du XXIe siècle devrait s'étendre aux maladies communes et apporter la promesse d'une médecine personnalisée, plus préventive et prédictive. Avec la diffusion rapide et récente des techniques de séquençage haut-débit, devenues techniquement et économiquement accessibles dans le domaine des maladies rares, le plan « Médecine France génomique 2025 » prévoit l'application de ces techniques permettant le séquençage complet du génome humain ou de l'exome à des milliers de patients par an dès 2018. Alors que les indications et modalités de prescription de ce type d'analyses ne sont pas encore définies, un débat concernant la conduite à tenir suite à l'identification de « données secondaires », apparaît plus que nécessaire. Les discussions actuelles portent principalement sur les modalités d'informations ayant trait à ces données. Se pose toutefois la question du bénéfice pour le patient, sans preuve scientifique établie, de connaître de telles informations. Il nous paraît indispensable de prendre le temps de la réflexion et d'opter pour des choix raisonnables pour la restitution de ces données issues du séquençage haut débit, avant de proposer un séquençage du génome de la population française.
Nous souhaitons exposer ici les arguments à l'encontre de la recherche systématique de ces données secondaires.

P305 : Vécu des femmes suivies en anténatal pour hyperclarté nucale avec bilan fœtal négatif

Auteurs :

LAURA LONGLET (1), CAMILLE DEPUT RAMPON (2), OLIVIA ANSELEM (2), CLEMENCE JAUNY (2), GENEVIEVE PAGES (2), SYLVIE DUQUENOIS (3), VASSILIS TSATSARIS (2)

1. Maternité Port-Royal, Université Paris Descartes, DHU Risques et Grossesse, PRES Sorbonne Paris Cité, Service de gynécologie et obstétrique de Port-Royal, Groupe hospitalier Cochin Broca Hôtel-Dieu, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, 53 avenue de l'observatoire, 75014 Paris, Port Royal, Paris, France
2. CPDPN de Cochin, Port Royal, Paris, France
3. Ecole de sage-femme de Baudelocque, Port Royal, Paris, France

Mots clefs : hyperclarté nucale, diagnostic prénatal, vécu, impact sur les relations précoces

Résumé :

Introduction : L'hyperclarté nucale (HCN) est un signe d'appel pour des anomalies chromosomiques, génétiques ou malformatives fœtales, sa découverte lors de l'échographie du premier trimestre débouche sur la proposition d'examens complémentaires précocement dans la grossesse. Même en l'absence de pathologie fœtale identifiée, cette situation est susceptible de bouleverser le processus psychique d'investissement de la grossesse.
Objectif : Evaluer les conséquences sur le vécu de la grossesse des investigations complémentaires réalisées en anténatal
Matériel et méthode : Nous avons réalisé une étude qualitative prospective, unicentrique, observationnelle et non interventionnelle basée sur 20 entretiens semi-directifs (13 prénataux et 7 postnataux) dans une maternité de type III disposant d'un CPDPN. Les femmes étudiées avaient été prises en charge au diagnostic anténatal pour une mesure de la clarté nucale supérieure ou égale à 3,5mm. Elles avaient toutes bénéficié d'un bilan comportant un caryotype fœtal, une ACPA à la résolution moyenne d'1,5Mb, une échographie morphologique ainsi qu'une échographie cardiaque fœtale. Pour l'ensemble de ces femmes, le bilan n'a mis en évidence aucune anomalie et une information pronostique rassurante sur le risque résiduel de pathologie fœtale identique à celui retrouvé dans la population générale leur a été délivrée, en accord avec les données de la littérature.
Résultat : L'analyse des entretiens montre que l'attitude de l'échographiste au moment de l'annonce semble être adaptée mais les informations délivrées étaient perçues comme trop imprécises et abstraites par la moitié des couples interrogés. Bien que l'incertitude pronostique entraine chez un couple sur deux un désinvestissement immédiat de la grossesse, il permet de laisser une perspective de réassurance même si le temps est en suspens. L'annonce des résultats rassurants permet à 11 femmes sur 13 de s'investir de nouveau dans leur grossesse et à l'incertitude initiale de s'estomper. Ainsi, elles intègrent véritablement les enjeux d'un signe d'appel échographique et notamment qu'il ne s'agissait pas d'un diagnostic mais de l'identification d'un risque. Malgré le sentiment d'avoir vécu une grossesse particulière, aucune n'a développé de trouble psychique dans le post-partum.
Conclusion : Les couples réalisant des examens complémentaires en anténatal devraient pouvoir bénéficier d'un suivi pluridisciplinaire adapté à leur singularité, disposer d'informations claires et homogènes, afin de devenir des acteurs à part entière et participer aux prises de décision. Notre étude a mis en évidence l'importance du respect de la temporalité tout au long des investigations, notamment en donnant des informations spécifiques de l'HCN dans un temps et un lieu différent, ainsi que par un autre professionnel que l'échographiste.

résumé assise de génétique.docx

P306 : Impact d'une structure de population à fine échelle géographique sur les tests d'association pour variants génétiques rares

Auteurs :

Elodie Persyn (1), Richard Redon (1, 2), Lise Bellanger (3), Christian Dina (1, 2)

1. INSERM, CNRS, UNIV Nantes, l'institut du thorax, Nantes, France
2. CHU Nantes, l'institut du thorax, Nantes, France
3. UMR CNRS 6629, Laboratoire de Mathématiques Jean Leray, Nantes, France

Mots clefs : épidémiologie génétique, études d'association, variants génétiques rares, stratification de population

Résumé :

Les études d'association de variants génétiques rares sont accessibles grâce à l'avancée des technologies de séquençage, et visent à identifier de nouveaux gènes de susceptibilité pour des maladies complexes. En raison de la faible puissance de détecter une association en testant individuellement les variants rares, ceux-ci sont généralement testés par groupes. De nombreuses méthodes ont été proposées durant la dernière décennie pour appréhender au mieux la complexité de tester un groupe de variants.
La stratification de population est connue pour être un facteur de confusion dans les études d'association génome-entier dans le cadre des variants fréquents. Différentes études ont montré que c'est également le cas pour les variants rares. Cependant les conséquences ont surtout été évaluées pour des structures de population à l'échelle mondiale ou continentale. Nous nous intéressons ici à des structures de population avec une échelle géographique plus fine, telle qu'à l'échelle d'un pays comme la France. Les variants rares sont supposés être apparus plus récemment et ainsi être plus géographiquement localisés, on peut supposer qu'un déséquilibre d'origine entre cas et témoins pourrait avoir un effet très fort. De plus Karakachoff et al. (2015) ont montré qu'il existe une structure génétique fine dans l'ouest de la France.
Nous avons étudié les conséquences d'une structure de population à fine échelle géographique sur les tests d'association pour variants rares, en termes d'erreurs de type I, à partir de simulations selon un modèle de coalescence implémenté par le logiciel COSI (Schaffner et al., 2005). Nous avons considéré dans le modèle démographique, deux sous-populations européennes avec une proximité géographique variant avec le taux de migration. Nous avons aussi fait varier la proportion de témoins provenant d'une population différente de celle des cas. Nous avons ensuite appliqué différents tests d'association, afin d'étudier l'impact selon les principales stratégies statistiques.
L'une des méthodes de correction les plus courantes est l'incorporation de covariables dans la statistique pour les tests se basant sur un modèle de régression logistique. Ces covariables correspondent généralement aux premières composantes principales de l'ACP sur les profils génétiques. L'efficacité de cette méthode de correction dans le cadre des variants rares n'est pas clairement démontrée dans les études précédentes. Nous avons évalué son efficacité dans le cadre de structures de population à échelle très fine.
D'après nos résultats, nous observons que la stratification de population entraine un biais pour les études d'association de variants rares même en présence d'une structure de population fine. L'impact n'est pas le même selon le test statistique employé. Enfin la méthode de correction par intégration de composantes principales dans le modèle de régression logistique est globalement efficace sauf dans le cadre de structures génétiques très fines.

Abstract_assises_genetiques_2018.doc

P307 : Développement d'un outil de caractérisation des anasarques d'origine métabolique par séquençage haut débit

Auteurs :

Pauline Blateau (1), Roseline Froissart (1), Cécile Pagan (1), Sophie Vasseur (1), Jérôme Massardier (2), Isabelle Rouvet (3), David Cheillan (1)

1. Service Biochimie et Biologie Moléculaire Grand Est, UM Pathologies Métaboliques, Erythrocytaires et Dépistage Périnatal , Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
2. Service Gynécologie-Obstétrique, Hôpital Femme Mère Enfant , Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
3. Centre de Biotechnologie Cellulaire , Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

Mots clefs : anasarque, dépistage prénatal, maladies héréditaires du métabolisme, séquençage haut débit

Résumé :

L'anasarque fœto-placentaire non immune complique une grossesse sur 3000. Parmi les nombreuses étiologies possibles, les maladies héréditaires du métabolisme représentent 1 à 5% des cas selon la littérature. Trois groupes de pathologies sont principalement impliqués : les maladies de surcharge lysosomale, les anomalies de glycosylation des protéines (ou CDG syndromes) et les anomalies de synthèse des stérols. Leur incidence est probablement sous-estimée du fait de l'absence de stratégie diagnostique exhaustive de ces pathologies en prénatal et de l'importante proportion (20%) de cas d'anasarque pour lesquels le diagnostic étiologique ne peut être déterminé. L'objectif de ce travail est de développer un outil diagnostique des anasarques d'origine métabolique par séquençage haut débit. L'étude d'un panel de 77 gènes sur NextSeq^{MD} 500 (Illumina) a été réalisée sur 47 ADN extraits de prélèvements fœtaux, adressés au laboratoire pour recherche de maladie métabolique. Le diagnostic avait été établi par les études fonctionnelles et moléculaires pour 13 grossesses (mucopolysaccharidose de type VII (n=2), de type IVA (n=1), maladie de Gaucher (n=1), mucolipidose de type II (n=1), maladie de surcharge en acide sialique libre (n=1), galactosialidose (n=1), gangliosidose à GM1 (n=1), glycogénose de type IV (n=1), PMM2-CDG (n=1), ALG3-CDG (n=1), et syndrome de Smith-Lemli-Opitz (n=2)), alors que 34 cas d'anasarques avaient été classés idiopathiques en l'absence de diagnostic identifié.
Après traitement bio-informatique via le pipeline HCL Papillyon, les 13 diagnostics connus ont pu être mis en évidence grâce à notre technique. En ce qui concerne les anasarques idiopathiques, 26 variants identifiés chez 16 fœtus dans les gènes *GBA*, *GLB1*, *GNPTAB*, *CTSA*, *NPC1*, *MAGT1*, *SLC35A2*, *STT3B, MAN1B1*, *POR* et *TALDO1* ont été considérés comme bénins après évaluation *in silico* (Alamut®Visual) de leur pathogénicité. Aucun nouveau diagnostic n'a pu être établi. Deux variants nécessitant la réalisation d'études complémentaires ont été identifiés chez 2 fœtus : un variant intronique homozygote du gène *NPC1*, c.1947+10G > C, dont l'effet n'est pas prédictible, justifiant la réalisation d'un test à la filipine pour exclure une éventuelle pathogénicité, et un variant hémizygote du gène *SLC35A2*, c.432A > G, pour lequel une altération de l'épissage est prédite. L'étude de la glycosylation de la vimentine, glycoprotéine fortement exprimée dans les amniocytes cultivés, est en cours de mise au point pour permettre la caractérisation fonctionnelle de ce variant.
Ce nouvel outil diagnostique a démontré une bonne sensibilité en ce qui concerne les pathologies métaboliques impliquées dans les anasarques fœto-placentaires, ce qui devrait permettre de réduire le nombre de cas classés idiopathiques au terme des investigations et d'offrir ainsi un conseil génétique adapté aux familles concernées.

abstract assises génétique.docx

P309 : Comment tirer plus d'informations du dépistage prénatal par séquençage massif ? Une méthode de détection et de quantification de l'ADN viral circulant dans le plasma maternel.

Auteurs :

Virginie Chesnais (1), Alban Ott (1), Emmanuel Chaplais (1), Samuel Gabillard (1), Christelle Vauloup-Fellous (2), Alexandra Benachi (3), Jean-Marc Costa (4), Eric Ginoux (1)

1. research and development, Life and Soft, Le Plessis-Robinsson, France
2. Virologie, Hôpital Paul-Brousse, Villejuif, France
3. Gynécologie obstétrique, Hôpital Antoine-Béclère, Clamart, France
4. , Cerba laboratories, Saint-Ouen-l'Aumône, France

Mots clefs : Diagnostique prénatal, NIPT, détection d'infection virale, NGS, CMV, ADN circulant

Résumé :

Le cytomegalovirus humain (CMV) est un virus à ADN de la famille des beta-herpevirus. Les infections maternelles par le CMV sont critiques au cours de la grossesse car elles peuvent entrainer une infection congénitale du fœtus qui peut avoir de grave répercussion chez l'enfant à la naissance. Avec entre 10 et 100 millions de fragments par millilitres de plasma, l'ADN circulant est la source de nombreuses applications dans le diagnostic génétique prénatal. Par exemple, le séquençage de génome entier (WGS) de l'ADN plasmatique circulant est classiquement utilisé pour la détection des aneuploïdies fœtales au cours de la grossesse. L'objectif de cette étude est de proposer une nouvelle méthode de détection et de quantification absolue de l'ADN viral durant la grossesse, en se basant sur les résultats de séquençage obtenus lors de la détection des aneuploïdies au cours du dépistage prénatal. En effet, il existe encore peu de méthodes capables de détecter et de quantifier la charge virale du CMV et d'autres virus dans le sang.
Notre approche consiste à se concentrer sur les séquences exogènes, c'est-à-dire non attribuable à l'humain. Nous identifions alors lesquelles correspondent spécifiquement à des virus d'intérêt ce qui permet ensuite de calculer la charge virale de l'échantillon. Nous vérifions la qualité des séquences et leur alignement uniforme sur les génomes viraux pour garantir une bonne spécificité. Nous avons conçu des échantillons de calibration pour valider les détections virales avec une sensibilité de 100% [88%-100] et une spécificité de 100% [94%-100%]. En plus de la détection, nous pouvons réaliser une quantification de la charge virale des échantillons grâce aux résultats obtenus lors de l'étape de calibration.
Nous avons appliqué notre méthode de détection et de quantification sur une cohorte de 538 femmes au cours de la grossesse. Dans cette cohorte de validation nous avons observé 2 échantillons positifs pour le CMV présentant une faible charge virale. Le statut sérologique de ces 2 échantillons a permis de montrer que ces femmes étaient immunisées contre le CMV au début de leur grossesse suggérant une possible réactivation virale ou une infection secondaire. Dans la même cohorte, nous avons également observé 3 échantillons de plasma présentant de l'ADN spécifique du virus de l'hépatite B (HBV). Pour 2 de ces patientes, le statut sérologique était connu et indiquait une infection HBV active au moment du prélèvement confirmant la capacité de notre méthode à détecter de manière spécifique différentes espèces virales dans un échantillon de plasma.
En résumé, notre étude démontre le potentiel du WGS dans le suivi des femmes au cours de la grossesse en proposant un test unique de dépistage prénatal permettant la mise en évidence de différents facteurs de risques pour le fœtus. Ce test pourrait permettre d'identifier rapidement grâce à un unique test non-invasif les grossesses nécessitant une prise en charge particulière.

Abstract_Assises_génétique.docx

P310 : Effet position sur le gène BCL11B responsable d'anomalie du neurodéveloppement et du développement immunitaire chez deux patients porteurs de translocation réciproque

Auteurs :

Caroline Schluth-Bolard (1), Davor Lessel (2), Bénédicte Demeer (3), Marine Lebrun (4), Flavie Diguet (1), Pierre-Antoine Rollat-Farnier (5, 6), Nicolas Chatron (1), 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 ; GENDEV Team , Bron, France
2. Institute of Human Genetics, University Medical Center Hamburg-Eppendorf, Hamburg, Allemagne
3. Centre d'activité de génétique clinique, Pôle pédiatrie, Hôpital Nord, CHU Amiens, Amiens, France
4. Service de Génétique Clinique, Chromosomique et Moléculaire, CHU Hôpital Nord, Saint-Etienne, France
5. Service de Génétique, Laboratoire de Cytogénétique Constitutionnelle, Centre de Biologie et de Pathologie Est, Hospices Civils de Lyon, Bron, France
6. Cellule bio-informatique de la plateforme NGS, Hospices Civils de Lyon, Bron, France

Mots clefs : effet de position, déficit immunitaire, déficience intellectuelle, troubles du comportement, whole genome sequencing, translocation

Résumé :

Les remaniements chromosomiques apparemment équilibrés peuvent avoir des conséquences sur l'expression des gènes adjacents au point de cassure par effet de position. Ce diagnostic reste difficile à établir en absence de caractérisation précise des points de cassure. Nous rapportons ici deux patients pour lesquels la caractérisation d'une translocation réciproque apparemment équilibrée par séquençage génome entier (*Whole Genome Sequencing*, WGS) a permis de mettre en évidence un tel effet de position.
Le premier patient (P1) est un garçon âgé de 11 ans, ayant présenté une hypotonie néonatale, puis un retard de langage, des troubles du comportement de type autistiques avec des crises d'anxiété, une dysmorphie faciale discrète (lèvres fines) et des allergies multiples. Le caryotype a montré la formule suivante : 46,XY,t(4;14)(p15;q32.1)dn. Le second patient (P2) est un jeune homme de 29 ans. Il a présenté un léger retard de langage et des difficultés scolaires à partir du collège. Il souffre de troubles dans les interactions sociales, présente une légère dysmorphie faciale (lèvres fines) et a été hospitalisé pour deux épisodes de décompensations psychiatriques aiguës Le caryotype a mis en évidence la formule suivante 46,XY,t(4;14)(q31.1;q32.2)dn.
Pour ces deux patients, le remaniement chromosomique a été caractérisé en ACPA puis par WGS (Illumina, 10-15X). Aucun déséquilibre pathogène n'a été identifié par ACPA. Le WGS a permis d'identifier tous les points de cassure, qui ont été validés en séquençage Sanger. Pour P1, les points de cassure sont localisés aux positions suivantes : chr4:24332309_24332315 (GCRh37) et chr14: 98758657_98758653 (GCRh37). Pour P2, les points de cassure ont été localisés aux positions suivantes : chr4:148252852_148252854 (GCRh37) et chr14:99097976_99097980 (GCRh37). Aucun gène n'était interrompu. Néanmoins, les points de cassure sur le chromosome 14 étaient localisés respectivement à 877 kb et 538 kb du gène *BCL11B*, séparant le gène d'un élément enhancer lymphocytaire T spécifique. Des études d'expression (RT-qPCR) sur ARN extrait de cellules sanguines ont montré une diminution d'expression du gène *BCL11B* par rapport aux contrôles, en faveur d'un effet de position sur ce gène.
Récemment, des mutations perte de fonction intéressant le gène *BCL11B* ont été rapportées chez des patients présentant une déficience intellectuelle, un retard de langage et une anomalie de développement des lymphocytes T. L'immunophénotypage lymphocytaire réalisé chez P1 montrait un profil identique aux patients déjà décrits, confortant le diagnostic. L'exemple de ces deux patients illustrent qu'une diminution d'expression par effet de position peut également contribuer à ce nouveau syndrome et rappelle l'importance de l'architecture génomique en pathologie humaine.

Abstract-BCL11B-final.docx

P311 : GEMO, une ressource nationale pour rechercher des gènes modificateurs des risques tumoraux chez les sujets portant une mutation de BRCA1 ou BRCA2

Auteurs :

Fabienne Lesueur (1), Noura Mebirouk (1), Laure Barjhoux (2), Maïté Laurent (3), Francesca Damiola (2), Muriel Belotti (3), Virginie Moncoutier (3), Sandrine M Caputo (3), Claude Houdayer (4), Nadine Andrieu (1), Sylvie Mazoyer (5), Olga Sinilnikova (6), Dominique Stoppa-Lyonnet (4), Groupe GEMO (3)

1. Inserm U900, Institut Curie, Mines ParisTech, PSL University, Paris, France
2. Biopathologie, Centre Léon Bérard, Lyon, France
3. Service de Génétique, Institut Curie, Paris, France
4. Service de Génétique, Inserm U830, Université Paris Descartes, Institut Curie, Paris, France
5. INSERM U1028, CNRS UMR5292, Centre de Recherche en Neurosciences de Lyon, Lyon, France
6. Unité mixte de Génétique Constitutionnelle des Cancers Fréquents, Hospices Civils de Lyon, Centre Léon Bérard, Lyon, France

Mots clefs : cancer du sein, prédisposition génétique, BRCA1, BRCA2, SNPs, facteurs modificateurs

Résumé :

Les femmes portant une mutation sur les gènes *BRCA1* et *BRCA2* ont un risque accru de développer un cancer du sein (CS) ou un cancer de l'ovaire (CO) qui varie, selon le type de familles étudiées entre 40 et 85%. Les corrélations génotype-phénotype chez les porteuses *BRCA1*/2 ne permettent pas d'expliquer l'ensemble des variations des risques tumoraux observées, notamment au sein de la même famille. Ces différences dans l'estimation du risque tumoral peuvent être dues à d'autres facteurs de risque génétiques et environnementaux. Afin de comprendre les causes de la grande variabilité, inter- et intra-familiale, de l'âge au diagnostic et du type de cancer développé, l'étude GEMO a été initiée en 1999 par Dominique Stoppa-Lyonnet (Institut Curie) et Olga Sinilnikova (CLB). Les participants porteurs d'une mutation *BRCA1/2*, atteints et non-atteints de cancer sont invités lors de la consultation d'oncogénétique. Aujourd'hui, 34 centres et 16 laboratoires diagnostics contribuent à GEMO. En septembre 2017, les données phénotypiques et l'ADN constitutionnel de 4514 femmes (2674 porteuses *BRCA1* et 1840 porteuses *BRCA2*) et 344 hommes (173 porteurs *BRCA1* et 171 porteurs *BRCA2*) ont été collectées par le centre coordonnateur. Parmi les participantes, 2667 ont développé un CS (1521 *BRCA1* et 1146 *BRCA2*) et 676 ont développé un CO (491 *BRCA1* et 185 *BRCA2*). Dix-sept des hommes porteurs d'une mutation de *BRCA2* ont développé un CS et 15 ont développé un cancer de la prostate. Au total, 519 mutations de *BRCA1* et 534 mutations de *BRCA2* distinctes sont décrites dans la base GEMO. GEMO est un membre fondateur du consortium CIMBA (*Consortium of Investigators of Modifiers of BRCA1/2*) formé en 2005 qui rassemble 70 groupes des cinq continents. Cette initiative internationale a permis de colliger les données phénotypiques de 46 000 porteurs *BRCA1/2*, les échantillons d'ADN de 38 000 d'entre eux et d'identifier, grâce à des études pangénomiques (GWAS), plus d'une centaine de variants nucléotidiques (SNPs) modifiant le risque de cancer des porteurs. Dans ces projets, 3132 participants de GEMO ont été génotypés avec les puces iCOGS et/ou OncoArray. Les projets en cours visent *i.* à identifier les variants causaux modifiant le risque de cancer chez les porteurs de mutation *BRCA1/2* et *ii.* évaluer l'intérêt clinique d'incorporer un score de risque polygénique (PRS) dans les modèles de prédiction. Grâce au projet CANSOP rendant les bases GEMO et GENEPSO (cohorte prospective de femmes porteuses d'une mutation *BRCA1/2*) inter-opérables, le groupe français contribue également aux études visant à évaluer les interactions entre les SNPs et les autres facteurs de risque de CS et le rôle des SNPs dans la survie et la réponse aux traitements. Ces travaux permettront d'aider à une meilleure compréhension de la diversité des manifestations cliniques associées aux mutations *BRCA1/2,* une meilleure évaluation du risque de cancer et par-là d'améliorer la prise en charge des femmes à risque.

Abstract_GEMO_final.docx

P312 : Développement d'un pipeline bioinformatique pour le dosage relatif d'haplotype appliqué au DPNI de la mucoviscidose

Auteurs :

Charly Mathieu (1), Vanessa Debant (1), Cécile Rouzier (2), Amandine Boureau-Wirth (2), Emmanuelle Haquet (3), Jacques Puechberty (3), Delphine Dupin Deguine (4), Philippe Khau Van Kien (5), Caroline Toga (6), Marie Antoinette Voeckel (6), Mireille Claustres (1, 7), Michel Koenig (1, 7), Claire Guissart (1, 7), Marie Claire Vincent (1, 7)

1. Laboratoire de Génétique Moléculaire IURC, CHU MONTPELLIER, Montpellier, France
2. Service de génétique médicale, CHU Nice, NICE, France
3. Service de génétique médicale, CHU MONTPELLIER, Montpellier, France
4. Service de génétique médicale, CHU Toulouse, Toulouse, France
5. Service de génétique médicale, CHU Nimes, Nimes, France
6. Département de Diagnostic Génétique Médicale, Hopital de La Timone, AP-HM, Marseille, France
7. Equipe Accueil EA7402, Université Montpellier, Montpellier, France

Mots clefs : DPNI, mucoviscidose, NGS, RHDO, interface Web

Résumé :

Contexte _ L'analyse NGS de l'ADN fœtal libre circulant est aujourd'hui une réalité pour le diagnostic prénatal non invasif (DPNI) des aneuploidies. Des preuves de concepts récemment publiées de DPNI NGS pour la β-thalassémie, l'atrophie musculaire spinale (Saba et al 2017, Parks et al 2017) montrent que cette technologie est très prometteuse pour le DPNI des maladies monogéniques. Dans cette étude, nous avons développé un test NGS précis et abordable pour le DPNI de la mucoviscidose (CF) facilement applicable en pratique clinique.
Patients et Méthode _ Nous décrivons la première application du NGS MiSeq Illumina® au DPNI CF de 16 couples à risque. Les échantillons ont été obtenus auprès de femmes enceintes entre 9 et 32 SA. Les librairies ont été préparées à l'aide d'une capture « custom » SeqCap EZ (NimbleGen, Roche) et du kit de quantification de librairie KAPA (Biosystems). Les données NGS ont été analysées par un pipeline bio-informatique spécifique. L'algorithme de calcul, développé au laboratoire, permet le dosage relatif d'haplotype (RHDO) selon une stratégie de trio. Cet outil calcule la fraction fœtale dans l'échantillon de plasma grâce à 2 méthodes indépendantes et détermine l'allèle hérité du père et de la mère par le fœtus en fonction des données de séquençage du plasma maternel et de l'haplotype des parents. Une interface Web, type « interface utilisateur graphique » (GUI), fournit la conversion BAM en gVCF et l'édition d'un rapport de résultat individuel pour chaque patiente.
Résultats _ L'analyse RHDO a été concluante pour les données de séquençage obtenues à partir de 11 des 16 familles étudiées (3 fœtus homozygotes sains, 5 hétérozygotes et 3 atteints). Pour les 11 familles analysables, les résultats montrent une spécificité et une sensibilité de 100%. Ils sont en accord avec ceux obtenus par les méthodes classiques de diagnostic prénatal. Le pipeline n'a pas été en mesure de procéder au traitement des données des 5 autres échantillons en raison du manque de SNP paternels informatifs nécessaires pour calculer la fraction fœtale.
Conclusions _ Ces premiers résultats prometteurs prouvent la faisabilité de notre approche et son application en pratique clinique. Le pipeline bio-informatique spécifique, développé au laboratoire, est facile d'utilisation grâce à son interface « GUI ». Il permet une interprétation rapide du test DPNI CF par automatisation de l'analyse des data. Il ne nécessite aucune connaissance en ligne de commande. Toutefois il s'avère nécessaire de modifier le set de capture SeqCap EZ de manière à augmenter le nombre de SNP lus afin de limiter les tests non concluants liés à un défaut d'informativité des SNP parentaux.

VincentMC_Abstract_soumis.docx

P313 : Premier cas de diagnostic génétique prénatal pour une mutation du gène RASA1 responsable du syndrome de malformation capillaire & malformation artério-veineuse

Auteurs :

Aurélien Palmyre (1, 2), Mélanie Eyries (3), Marie-Victoire Senat (4), Augustin Ozanne (5, 2), Céline Bordet (3), Stéphanie Staraci (1, 3), Philippe Dufour (6), Thierry Chinet (7, 2), Pascal Lacombe (8, 2), Florent Soubrier (3), Philippe Charron (1, 2)

1. Service de Génétique, Hôpital Ambroise Paré, Assistance Publique Hôpitaux de Paris, Boulogne-Billancourt, France
2. Centre de compétence pour la maladie de Rendu Osler, Hôpital Ambroise Paré, Assistance Publique Hôpitaux de Paris, Boulogne-Billancourt, France
3. Département de Génétique, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Assistance Publique Hôpitaux de Paris, Paris, France
4. Service Gynécologie Obstétrique, Hôpital Bicêtre, Assistance Publique Hôpitaux de Paris, Le Kremlin-Bicêtre, France
5. Service de Neuroradiologie Interventionnelle, Hôpital Bicêtre, Assistance Publique Hôpitaux de Paris, Le Kremlin-Bicêtre, France
6. Service Maternité et suites de naissances, Hôpital Jeanne de Flandre, CHRU de Lille, Lille, France
7. Service de Pneumologie et Oncologie Thoracique, Hôpital Ambroise Paré, Assistance Publique Hôpitaux de Paris, Boulogne-Billancourt, France
8. Service d'Imagerie Diagnostique et Interventionnelle, Hôpital Ambroise Paré, Assistance Publique Hôpitaux de Paris, Boulogne-Billancourt, France

Mots clefs : diagnostic prénatal, RASA1, syndrome de malformation capillaire-malformation artério-veineuse

Résumé :

RASA1-related disease is a rare autosomal dominant disease characterized by capillary malformations, arteriovenous malformations (AVMs) and/or arteriovenous fistulas (AFVs). Penetrance is nearly complete and vascular malformations may cause serious complications such as organ injury due to oxygenation disorder, brain abscess, hemorrhage and stroke. Early diagnosis is useful in order to discuss optimal management, including AVMs/AVFs embolization or surgical procedures, and try to prevent some of the complications. In this context, molecular testing of *RASA1* gene mutation in relatives may help to better manage the family. All arteriovenous malformations are however not accessible to such procedures. In addition, these therapeutic procedures may result in potential side effects and complications.
A couple was referred to our genetics unit and asked us for prenatal genetic testing about a *RASA1* mutation. The pregnant woman was 25 years old, had no known medical condition and was not related to her husband who carried a heterozygous *RASA1* mutation. The husband presented with cutaneous hemangiomas, but without AVMs. His brother, who was the index case, developed a cerebral AVM, diagnosed at the age of 12 months, was treated by several endovascular neuroradiological interventions, however with significant sequelae (severe hemiparesis and mental retardation) because of delayed diagnosis and management.
Here we discuss about arguments that led our team to accept prenatal genetic testing. To the best of our knowledge, no molecular prenatal diagnosis was reported until now in *RASA1*-related diseases. This first report of prenatal diagnosis in *RASA1*-related diseases may also offer perspectives for a more general discussion in the field of inherited arteriovenous malformations.

DPN-RASA1 assises génétique 2018.docx

P314 : Etude de la transmission de l'information génétique aux apparentés dans le syndrome d'Ehlers-Danlos vasculaire

Auteurs :

Jean-Michaël MAZZELLA (1), Salma ADHAM (2), Michael FRANK (1), Xavier JEUNEMAITRE (1), Khadija LAHLOU-LAFORET (3)

1. APHP, Centre de Référence des Maladies Vasculaires Rares ; Université Paris-Descartes Paris, France, Hôpital Européen Georges Pompidou, PARIS, France
2. Centre de Référence des Maladies Vasculaires Rares, Hôpital Européen Georges Pompidou, APHP, PARIS, France
3. Unité de Psychologie et Psychiatrie de Liaison et d'Urgence, Hôpital Européen Georges Pompidou, PARIS, France

Mots clefs : Transmission de l'information à la parentèle , vécu de la maladie , syndrome d'Ehlers-Danlos vasculaire , annonce diagnostique , sentiment de culpabilité

Résumé :

Le syndrome d'Ehlers-Danlos vasculaire (SEDv) est une maladie héréditaire prédisposant à la survenue de complications artérielles, digestives et utérines. Outre la possibilité pour les patients de bénéficier d'une prise en charge adaptée et de mesures de prévention diminuant le risque de complications, l'identification d'une mutation du gène *COL3A1* permet également de réaliser un dépistage familial de la maladie, à condition que les apparentés aient été préalablement informés. Le décret n°2013-527, paru le 20 juin 2013 fixe les modalités d'information à la parentèle. Il existe peu de données dans la littérature sur le SEDv concernant l'évaluation de la transmission de l'information aux apparentés.
Les objectifs de cette étude sont d'évaluer : i) la transmission effective de l'information génétique aux apparentés ; ii) l'impact de l'annonce diagnostique et le vécu du SEDv. Nous émettons l'hypothèse qu'il pourrait exister un lien entre le vécu de la maladie et la capacité à transmettre aisément l'information à la parentèle.
Un autoquestionnaire a été remis à n=31 cas index majeurs atteints de SEDv, suivis dans le Centre de Référence des Maladies Vasculaires Rares après recueil de leur consentement. La première partie évalue la transmission de l'information aux apparentés, l'intégralité des questions a été élaboré en ce sens. Elle est considérée comme effective si le patient a informé certains ou tous ses apparentés, et aisément réalisée s'il a indiqué ne pas avoir eu de difficulté à informer rapidement l'ensemble de ses apparentés. La seconde partie traite des aspects personnels et familiaux du patient vis-à-vis du vécu de sa maladie.
La transmission effective de l'information aux apparentés est estimée à 96,8%. Les frères et sœurs sont les personnes le plus souvent informées (80,6%). Par ailleurs si cette démarche d'information semble simple à réaliser (60,0%) elle reste cependant inquiétante pour 43,3% des patients. Concernant le vécu de la maladie, i) près de la moitié des patients (48,4%) ont ressenti "beaucoup" ou "énormément" d'anxiété au moment de l'annonce du diagnostic génétique et plus de la moitié d'entre eux ont éprouvé un sentiment de fatalité (54,8%) et de malchance (58,1%) ; ii) 83,9% des cas index estiment que ce diagnostic offre la possibilité de débuter un suivi ; iii) plus de la moitié des cas index ayant des enfants ou en âge d'en avoir éprouvent un sentiment de culpabilité à l'idée de transmettre le SEDv à leur descendance (53,3% et 58,3% respectivement) ; iv) la plupart des cas index interrogés considèrent le SEDv comme une maladie "relativement sévère" (74,2%). Toutefois à l'heure actuelle ces résultats ne permettent pas de confirmer l'hypothèse proposant un lien entre le vécu de la maladie et la capacité à transmettre facilement l'information à la parentèle puisqu'il n'existe pas de différence significative probante entre les réponses des n=10 patients ayant correctement informé leurs apparentés et les n=21 autres patients.

Abstract ETAPE SAM3.docx

P315 : Evaluation d'un groupe de parole et d'échange dans le dispositif de suivi des consultations de génétique oncologique pour les femmes porteuses d'une mutation identifiée dans l'un des deux gènes BRCA1 ou BRCA2

Auteurs :

Nicolas Taris (1), Sophie Laurent (1), Hélène Schuster (1), Jean-Pierre Fricker (1)

1. Oncogénétique, Centre Paul Strauss, Strasbourg, France

Mots clefs : BRCA, Groupe de parole, Evaluation, Questionnaire

Résumé :

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 des deux gènes *BRCA1* et *BRCA2*, (indemnes ou atteintes de cancer) de participer à un groupe de parole et d'échange.

L'objectif était d'inviter ces femmes à échanger, en dehors du cadre formel de la consultation de résultat et à distance de celle-ci, sur les nombreuses questions inhérentes à la notion de prédisposition génétique. Les rencontres du groupe sont organisées tous les deux à trois mois depuis novembre 2014, co-animés par une psychologue et un conseiller en génétique.

Au total, 35 femmes y ont participé. D'abord organisé sur deux créneaux possibles, le mercredi et le samedi, seul le créneau du samedi a été conservé après avril 2016 afin d'assurer un nombre suffisant de participantes. Le nombre moyen de participantes le samedi est de 8 personnes. Onze d'entre elles (31%) ne sont venues qu'à une reprise. Quinze (43%) ont participé à 3 rencontres ou plus, quatre enfin (11%) ont assisté à la quasi-totalité.

Après presque trois années de fonctionnement, nous avons souhaité évaluer l'intérêt de cette pratique au travers d'un questionnaire, envoyé en septembre 2017 à l'ensemble des 35 femmes ayant participé, ne serait-ce qu'une fois, à ces rencontres.

Ce questionnaire est organisé en 3 volets. Les deux premières parties sont respectivement consacrées aux données socio-démographiques et aux antécédents médicaux carcinologiques éventuels. La troisième partie vise à évaluer directement la pratique du groupe, l'ensemble du questionnaire étant composé d'un total de 20 questions.

Nous présentons les premiers résultats de cette évaluation par retour de questionnaire afin discuter de l'intérêt et des limites d'un tel dispositif et de porter une réflexion plus globale sur les modèles d'accompagnement et de communication dans le suivi des consultations de génétique oncologique.

P316 : Signature sanguine des microARNs et risque de vasospasme post-hémorragie sous archnoidienne.

Auteurs :

Anne-Sophie Pulcrano-Nicolas (1, 2), Carole Proust (1, 2), Claire Perret (1, 2), Maguelonne Roux (1, 2), Florian Thibord (3, 2), Vincent Degos (4), Sophie Garnier (1, 2), David-Alexandre Trégouët (1, 2)

1. UMR_S 1166, Team Genomics & Pathophysiology of Cardiovascular Diseases, Sorbonne Universités, UPMC Univ. Paris 06, INSERM, Paris, France
2. ICAN, Institute for Cardiometabolism and Nutrition, Paris, France
3. UMR_S 1166, Team Genomics & Pathophysiology of Cardiovascular Diseases, UPMC Sorbonnes Universities- Pitié Salpetrière Hospital, INSERM, Paris, France
4. Département de Neuro-Anesthesie Réanimation, UPMC Sorbonnes Universities- Pitié Salpetrière Hospital, INSERM, Paris, France

Mots clefs : MicroARN, Vasospasme, Transcriptome, Biomarqueurs

Résumé :

L'hémorragie sous arachnoidienne (HSA) est une pathologie sévère qui représente 5% de tous les accidents vasculaires cérébraux. Le taux de mortalité avoisine 40% et, dans 50% des cas, les survivants restent handicapés du fait des séquelles neurologiques provoquées par le saignement et/ou ses nombreuses complications. La principale complication de l'HSA est le vasospasme. Cette contraction prolongée d'une artère cérébrale se produit entre le 4ème et le 12ème jour post HSA et provoque une réduction de la perfusion sanguine entrainant des séquelles neurologiques graves. Il n'existe aucun marqueur avéré et utilisé en clinique pour prédire la survenue de cette complication. Nous décrivons ici les résultats d'une étude visant à identifier des microARNs (miARNs) circulants associés au risque de vasospasme à partir d'échantillons sanguins de patients HSA. Pour cela, 32 patients HSA ont été recrutés dans le service de neuro-anesthésie de l'hôpital de la Pitié-Salpêtrière parmi lesquels 16 ont développé un vasospasme (cas) et 16 n'ont eu aucune complication (témoins). Les cas et les témoins ont été rétrospectivement appariés sur l'âge, le sexe et la sévérité de l'hémorragie. Pour chaque patient, des échantillons de sang ont été prélevés le jour de l'admission des patients pour leur HSA (D0) ainsi que 3 jours avant le diagnostique du vasospasme (D3) (ou le jour correspondant pour le contrôle apparié) et les ARNtotaux contenant les microARNs ainsi que les ARNms ont été isolés à partir de ces échantillons. Le séquençage des miARNs a été réalisé sur un NextSeq500 d'Illumina en préparant les librairies avec le kit «NEBNext Small RNA Library Prep Set for Illumina». L'étude du transcriptome a été réalisée par hybridation des ARNms sur puce Illumina Human ref-8v4.0. Le séquençage a permis d'identifier 442 miARNs matures connus et exprimés chez plus de 10 sujets. Une analyse différentielle a été menée au moyen d'un modèle linéaire mixte afin de détecter les miARNs présentant des niveaux d'expression significativement différents selon le statut vasospasme des patients. Au seuil de Bonferroni de $1x10^{-4}$, nous avons identifié un miRNA différentiellement exprimé entre les cas et les témoins ($p=5.9x10^{-5}$). Que ce soit à D0 ou à D3, ce miARN est retrouvé avec des taux plus élevés chez les cas que chez les témoins (6.20 ± 0.36 vs 5.89 ± 0.50 et 6.18 ± 0.55 vs 5.41 ± 0.62, resp.), association validée par qPCR (p=0.04). L'utilisation de différents outils bioinformatiques révèle que ce miARN n'est exprimé que dans le cerveau et le cervelet, et a permis d'identifier plusieurs gènes cibles potentiels. Dans nos données transcriptomiques, parmi ces cibles, 7 présentent des taux sanguins significativement plus bas chez les cas (0,006<p<0,02), associations cohérentes avec un mécanisme de régulation impliquant ce miARN. En conclusion, ce travail identifie un miARN candidat pour le risque de vasospasme chez les patients HSA et suggère de nouvelles voies physiopathologiques d'intérêt.

Signature sanguine des microARNs et risque de vasospasme post-hémorragie sous archnoidienne.docx

P317 : La recherche de prédispositions génétiques aux pathologies malignes de l'enfant : les dilemmes éthiques posés dans la pratique professionnelle

Auteurs :

Sandrine de Montgolfier (1)

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

Mots clefs : oncogénétique, enfant, éthique, NGS, information

Résumé :

Les techniques de séquençage de nouvelles générations remettent en cause l'estimation traditionnelle de la part des prédispositions génétiques dans les cancers de l'enfant ; en effet, d'une part ces techniques ont permis de découvrir de nouveaux syndromes de prédisposition, puis de démontrer que les gènes ainsi identifiés sont en cause plus largement dans des formes en apparence sporadique ; d'autre part divers programmes de séquençages massifs « tous azimuts » chez des enfants atteints de cancers en apparence sporadique ont pu commencer à révéler une fréquence inattendue de variant rares dans des gènes déjà impliqués dans des syndromes de prédisposition au cancer.
Ces pratiques à l'interface entre clinique et recherche, se développent beaucoup chez l'adulte tout en posant de nombreuses questions éthiques, psychologiques et légales. Le contexte pédiatrique interroge ces mêmes questions en les rendant encore plus prégnante de part la question de la vulnérabilité du patient et de sa famille liée au contexte de la maladie, de l'âge, de l'éventuelle implication familiale, du cadre juridique encore imparfait, et du manque d'outils adaptés pour communiquer et informer famille et enfant dans ce contexte.
Nous proposons de présenter ici l'état des réflexions et des recommandations nationales et internationales sur l'utilisation des techniques de NGS dans un contexte pédiatrique et de réfléchir en quoi elles sont transférables intégralement ou non au contexte onco-pédiatrique. Nous présenterons les résultats d'une enquête exploratoire menée auprès de professionnels par entretien pour recenser les questions éthiques rencontré dans leur pratique et de décrire à partir d'exemple des cas de dilemmes éthiques.
Comment penser le parcours et le role des acteurs impliqués dans la proposition de recherche de predisposition génétique d'un enfant en onco-pédiatrie ? Comment proposer une information pertinente dans un contexte de vulnérabilité ? Comment mener des projets de recherches rétrospectifs sur des échantillons biologiques d'enfants décédés, quelle communication avec les parents dans quel cadre légal ? Nous pourrons ainsi élaborer une analyse des enjeux éthiques de ces différents cas de figure.

Assises génétiques.docx

P318 : Les consultations d'oncogénétique en pédiatrie: quelle place donner à l'enfant? Quelle communication avec lui et avec ses parents?

Auteurs :

Béatrice CLARET (1)

1. Unité de Psycho-Oncologie, Gustave Roussy, Villejuif, France

Mots clefs : communication, enfant, oncogénétique, pédiatrie, consultation

Résumé :

Contexte : La consultation d'oncogénétique en pédiatrie de Gustave Roussy est actuellement réalisée par un médecin généticien, accompagné d'une psychologue clinicienne et d'une conseillère en génétique. La transdisciplinarité, présente d'emblée, soutient la pratique quotidienne d'accompagnement des enfants et de leurs familles, et le propos de cette communication.
Problématique : Travaillant comme psychologue au sein de ces consultations, après un temps d'observation, j'ai pu questionner avec l'équipe le caractère adapté ou non de la présence des enfants dans la première partie de la consultation, réservée à la réalisation d'un arbre généalogique recensant les antécédents médicaux, principalement de cancer, dans la famille de l'enfant. En effet, certaines histoires familiales peuvent être particulièrement lourdes, et l'arbre généalogique devenir alors un véritable "arbre de mort". Dans quelle mesure les enfants sont-ils au courant de cette histoire? Les parents sont-ils alors en situation de choisir ce dont ils veulent leur parler? Peuvent-ils, à ce moment précis, se montrer contenants si nécessaire ? Comment les enfants vivent ils cette somme d'informations concentrées, brutes, et parfois totalement inédites? Qu'en est-il de leurs parents, disposant de peu de temps de réflexion pour répondre aux questions posées par le corps médical?
Action : Après avoir échangé en équipe, nous avons choisi de scinder dans la mesure du possible ces consultations en deux temps, afin d'évoquer l'histoire familiale et les recherches génétiques pouvant être proposées avec les parents seuls, puis d'accueillir l'enfant et de lui expliquer avec des mots adaptés à son âge la démarche pouvant être initiée.
Discussion : D'autres questions sont alors apparues : quels doivent être les objectifs de chaque temps de consultation, tant sur le plan médical que psychologique ? Jusqu'à quel âge faire ces consultations en deux temps? L'âge peut-il représenter le seul critère pour en décider? Comment intégrer dans cette décision la spécificité propre à chaque famille, comprenant leur histoire familiale, le mode et la qualité de la communication dans la famille autour de la maladie et de l'histoire familiale, le positionnement des parents à ce sujet?
L'objectif de cette communication est de retracer le cheminement de notre équipe depuis deux ans, en reprenant brièvement dans la revue de la littérature des questionnements en lien avec le "juste dire" à l'enfant (en évitant le "non dit" comme le "trop dire"), le risque de "transparence" de l'enfant[1], la façon dont les annonces médicales en pédiatrie ont pu être pensées et questionnées, et la place faite aux parents dans ce contexte. Des vignettes cliniques étayeront le propos.

[1] Gargiulo M,Herson A, Angeard N (2014) Annoncer une maladie génétique à l'enfant. Désir de savoir, besoin de comprendre.Mt pédiatrie, 7(1):8-14

assisesgénét2018.docx

P319 : Application des techniques de séquençage haut débit dans les projets de mariages consanguins : A propos du cas d'une famille avec cystinose

Auteurs :

Wiam SMAILI (1), Abdelali ZRHIDRI (2), Jaber LYAHYAI (1), Abdelaziz SEFIANI (1)

1. Centre de Génomique Humaine , Faculté de Médecine et de Pharmacie- Université Mohamed V- Souissi, Rabat, Maroc
2. Centre de Génomique Humaine , Faculté de Médecine et de Pharmacie - Université Mohamed V - Rabat, Rabat, Maroc

Mots clefs : Cystinose, Mariage consanguin, séquençage haut débit, Conseil génétique.

Résumé :

Au Maroc, l'incidence des maladies monogéniques, en particulier celles à transmission autosomique récessive, est élevée, en raison du haut taux de consanguinité estimé à 15,25%. L'identification des mutations des gènes associés à une maladie génétique autosomique récessive rare est un problème majeur en génétique médicale en raison de la gravité et de la prévalence de ces maladies.

Il y a quelques année la survenue des technologies de séquençage haut débit ont permis de révolutionner la prise en charge des familles à risque de maladies mendéliennes et plus précisément dans le contexte marocain, des maladies autosomiques récessives vu la fréquence des mariages consanguins.

Nous avons reçu en consultation de génétique médicale, un couple de cousins germain ayant un projet de mariage, dont la descendance serait à risque de cystinose ; une maladie lysosomale à transmission autosomique récessive causée par des mutations du gène *CTNS*(17p13) pouvant évoluer vers une insuffisance rénale terminale , diagnostiquée cliniquement chez la sœur du patient.

Le diagnostic moléculaire par séquençage haut-débit au moyen d'un appareil PGM ion torrent et du panel Ion AmpliSeqTM Inherited Disease comprenant le gène *CTNS* a permis d'identifier la mutation causale de la maladie qui est la délétion de deux exons (4 et 5) à l'état homozygote chez la malade. Cette délétion a été mise en évidence par PCR sur gel après extraction d'ARN. Chez le couple nous avons pu mettre en évidence la délétion à l'état hétérozygote chez le frère sain et son absence chez la cousine.

Nous rapportons dans cette étude, une des applications majeures du séquençage nouvelle génération. Ces tests devenus plus accessibles et plus rapides seraient d'un meilleur rapport coût bénéfice pour les patients et leurs familles ; vu qu'ils ont permis non seulement de faire un diagnostic moléculaire précis pour la patiente malade mais également d'identifier le profil moléculaire du couple consanguin, afin de leur prodiguer un conseil génétique adéquat et les rassurer par rapport au risque pour la descendance.

Cystinosis Abstract.docx

P320 : Prise en charge médico-sociale et socio-éducative des patients porteurs de trisomie 21 en âge d'être scolarisés, à partir de l'étude CNSA des centres de références anomalies du développement et syndromes malformatifs

Auteurs :

Pierre-Henri Roux-Levy (1), Christine Binquet (2), Sophie Chancenotte (2), Isabelle Gueneau (2), Alice Masurel (2), Nolwenn Jean-Marçais (2), Flavie Piegelin (2), Christel Thauvin (2), Patrick Edery (3), Didier Lacombe (4), Sylvie Odent (5), Sylvie Manouvrier (6), David Geneviève (7), Nicole Philip (8), Alain Verloes (9), Laurence Faivre (10), Catherine Lejeune (11)

1. Département de médecine générale de Dijon, Université de Bourgogne, Dijon, France
2. Génétique, CHU de Dijon, Dijon, France
3. Centre de référence anomalies du développement et syndromes malformatifs , CHU de Lyon, Lyon, France
4. Centre de référence anomalies du développement et syndromes malformatifs , CHU de Bordeaux, Bordeaux, France
5. Centre de référence anomalies du développement et syndromes malformatifs , CHU de Rennes, Rennes, France
6. Centre de référence anomalies du développement et syndromes malformatifs , CHRU de Lille, Lille, France
7. Centre de référence anomalies du développement et syndromes malformatifs , CHU de Montpellier, Montpellier, France
8. Centre de référence anomalies du développement et syndromes malformatifs , CHU de Marseille, Marseille, France
9. Centre de référence anomalies du développement et syndromes malformatifs , APHP-Hôpital Robert DEBRE, Paris, France
10. Centre de référence anomalies du développement et syndromes malformatifs , CHU de Dijon, Dijon, France
11. Centre d'investigation clinique, CHU de Dijon, Dijon, France

Mots clefs : Trisomie 21, déficience intellectuelle, rééducation, suivi des soins, scolarisation

Résumé :

La trisomie 21 constitue l'une des anomalies chromosomiques les plus fréquentes à la naissance. La prévalence est estimée à environ 1 cas pour 2 000 naissances vivantes dans la population française. Les profils de ces enfants peuvent varier fortement selon le niveau de déficience, les comorbidités associés mais également de l'environnement dans lequel ils évoluent. Dans tous les cas, les enfants atteints nécessitent une prise en charge pluridisciplinaire. L'objectif de ce travail était de décrire quantitativement et qualitativement les ressources mobilisées pour la prise en charge médico-rééducative et socio-éducative des patients porteurs de trisomie 21 en âge d'être scolarisés, et de corréler ces données aux évaluations psychométriques systématiques réalisées pour tous les patients. Une étude mixte a été réalisée. L'analyse quantitative a reposé sur les données de l'étude CNSA des centres de références Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs incluant des patients âgés de 4 à 20 ans et porteurs d'anomalies chromosomiques. Les patients avaient été recrutés de septembre 2011 à décembre 2012. Cette étude a été complétée par des entretiens semi-directifs. Les résultats des deux études ont été analysés de manière conjointe. Quatre-vingt quinze patients porteurs de trisomie 21 ont été inclus avec un âge moyen de 10,9 ans. Le sex ratio H/F était de 1,3. Cinq pour cent avaient une déficience intellectuelle profonde, 20% une déficience intellectuelle sévère, 69% une déficience intellectuelle moyenne, 5% une déficience intellectuelle légère et 1% avaient des troubles cognitifs sans déficience intellectuelle. Sur le plan de la scolarisation, 94% des enfants âgés de 4 à 6 ans étaient scolarisés en milieu ordinaire alors que 75% des enfants âgés de 15 à 20 ans étaient en établissements spécialisés. En ce qui concerne la rééducation, l'orthophoniste était le plus sollicité et suivait 93% de la population d'étude. En revanche, ils étaient seulement 23% à avoir un suivi par un kinésithérapeute. Les principales difficultés évoquées par les professionnels de terrain étaient le manque de places et les longues listes d'attente des structures que ce soit pour la scolarisation ou la rééducation. Sur le plan médical, le suivi semblait être régulier. En conclusion, la loi de 2005 sur l'égalité des chance et des droits des personnes handicapés a permis d'importantes améliorations notamment sur l'accès à la scolarisation ordinaire des enfants handicapées. Cependant des progrès restent à faire en particulier sur l'accès aux structures et la poursuite des soins à l'âge adulte.

P321 : Diagnostic prénatal non invasif de l'achondroplasie : stratégie optimale combinant échographie et analyse de l'ADN fœtal libre circulant.

Auteurs :

Alexandre Vivanti (1), Jean-Marc Costa (2), Audrey Rosefort (1), Pascale Kleinfinger (3), Laurence Lohmann (3), Anne-Gael Cordier (1), Alexandra Benachi (1)

1. Service de Gynécologie-Obstétrique et Médecine de la Reproduction, CHU Antoine Béclère, Clamart, France
2. Laboratoire CERBA, CERBA, Saint-Ouen l'Aumône, France
3. Laboratoire CERBA, CERBA, Saint-Ouen l'Aumône, France

Mots clefs : Achondroplasia, chondrodysplasia, genetics, FGFR3, cffDNA, Non-invasive prenatal testing, ultrasonography

Résumé :

Objective: To assess the performance of non-invasive prenatal testing of achondroplasia using high-resolution melting (HRM) analysis. To propose an optimal diagnosis strategy combining ultrasound scan and cell-free fetal DNA (cfDNA) analysis.

Methods: Prospective multicenter study. CfDNA was extracted from maternal blood from women at risk for fetal achondroplasia (paternal achondroplasia, previous affected child or suspected rhizomelic shortening). The presence of one of the two main *FGFR3* mutations was determined by HRM combined with a confirmation by SNaPshot minisequencing. Results were compared with phenotypes obtained by 3D computed tomography, post-natal examination and/or molecular diagnosis by an invasive procedure. Fetal biometry was also analyzed (head circumference and femur length) in order to offer cfDNA for achondroplasia to select fœtus and avoid to many false negative results.

Results: Eighty-six blood samples from women at risk were collected (and sixty-five from control women). The overall sensitivity and specificity of the test were respectively 1.00 (95% CI [0.87-1.00]) and 1.00 (95% CI [0.96-1.00]). Critical reduction of femur length for affected fetuses can be observed from 26 weeks of gestation

Conclusion: HRM combined with SNaPshot minisequencing represents a reliable assay for noninvasive prenatal testing of achondroplasia. Its implementation in routine clinical care combined with ultrasonography offers an efficient strategy for non-invasive diagnosis of achondroplasia.

Abstract Assises.docx

P322 : Interprétation d'études d'association à grande échelle

Auteurs :

Lea Bellenger (1), Sidwell Rigade (1), Pierre-François Busson (1), Jean-Jacques Schott (1), Raluca Teusan (1), Audrey Bihouée (1), Christian Dina (2)

1. , l'institut du thorax, INSERM, CNRS, UNIV Nantes, CHU Nantes, Nantes, France, Nantes, France
2. Génétique, l'institut du thorax, INSERM, CNRS, UNIV Nantes, CHU Nantes, Nantes, France, Nantes, France

Mots clefs : GWAS, ENCODE, épigénétique, fonction

Résumé :

Les études d'association sur génome entier (GWAS) sont conçues pour identifier les gènes sous-jacents aux traits complexes. Dans son contexte initial, cette conception était purement statistique.
Au cours de la dernière décénie, les études d'association sur génome entier ont permis d'identifier des centaines de variants génétiques statistiquement associés à des maladies complexes.
Dans l'ère post-GWAS, le plus grand défi est de combiner les résultats de GWAS avec des données moléculaires et génomiques suplémentaires (carte des caractéristiques épigénétiques, association avec l'expression des gènes – eQTLs, réseaux d'interaction protéine-protéine) afin de caractériser fonctionnellement les associations.

Nous avons utilisé un score de fonctionnalité (FUN-V-LDA). Cette méthode est basée sur un modèle d'allocation de Dirichlet latent pour prédire les effets fonctionnels des variants génétiques non codants dans un type cellulaire et un tissu spécifique en intégrant diverses annotations épigénétiques à partir de projets épigénomiques à grande échelle (ENCODE et Roadmap Epigenomics). Les résultats des tests biochimiques dans 127 epigenomes (tissus et lignées cellulaires) ont été utilisés afin d'évaluer la fonctionnalité de chaque position du génome. Toutefois, cette méthode peut être étendue à n'importe quel algorithme d'annotation (par exemple GenoSklyne, chromHMM). FUN-V-LDA peut signaler une probabilité d'être fonctionnel par locus ainsi qu'une étiquette (enhancer, super-enhancer, promoteur).
En faisant l'intersection des régions d'association et des régions potentiellement fonctionnelles à travers les tissus, nous avons pu identifier l'enrichissement des régions d'association dans des tissus spécifiques.
Trouver des gènes candidats dans un locus d'association implique de définir la portée dans laquelle un SNP peut moduler l'expression d'un gène. La stratégie habituelle est soit de pointer vers le gène le plus proche, soit de définir une région de taille arbitraire et d'accepter tout gène dans cette région en tant que candidat. Nous proposons ici une approche s'appuyant sur les domaines associés topologiques.

Nous avons utilisé les permutations des régions d'association sur le génome afin d'évaluer une p-valeur pour l'association et l'enrichissement. Le processus de permutation identifie les régions qui sont similaires en MAF et en taille aux régions observées afin de permettre un processus apparié.
Ces méthodes ont été appliquées aux études d'association GWAS publiquement disponibles pour divers phénotypes.

Assises 2018 french_abstract.docx

P323 : L'implication des variants rares dans les maladies complexes du développement : exemple de l'holoprosencéphalie

Auteurs :

Artem Kim (1), Clara Savary (1), Christèle Dubourg (2), Wilfrid Carré (2), Charlotte Mouden (1), Houda Hamdi-roze (2), Valérie Dupé (1), Sylvie Odent (3, 4), Marie de Tayrac (1), Véronique David (1)

1. Institut de Génétique et Développement de Rennes (IGDR), Université Rennes 1, Rennes, France
2. Service de Génétique Moléculaire et Génomique, CHU Rennes, Rennes, France
3. Service de Génétique Clinique, CHU Rennes, Rennes, France
4. Centre de référence "Maladies Rares" CLAD-Ouest, CHU Rennes, Rennes, France

Mots clefs : exome, holoprosencéphalie, maladies complexes, variants rares

Résumé :

L'holoprosencéphalie (HPE) est une pathologie du développement cérébral caractérisée par une grande hétérogénéité, à la fois phénotypique et génétique. Quinze gènes sont actuellement impliqués dans l'HPE mais 70% des cas restent inexpliqués. Afin de préciser les bases génétiques de l'HPE, des modes de transmission complexes doivent être considérés. Ainsi, l'HPE a été redéfinie récemment comme une maladie multigénique nécessitant l'accumulation de plusieurs évènements mutationnels touchant des gènes impliqués dans les voies du développement cérébral. Ces évènements mutationnels peuvent correspondre à des variants rares agissant de manière hypomorphe.

L'objectif de notre étude a été d'explorer l'origine multigénique de l'HPE et de proposer des nouvelles approches bio-informatiques pour améliorer le diagnostic des maladies génétiques complexes. Trente-six familles atteintes d'HPE pour lesquelles aucun diagnostic moléculaire n'avait pu être établi, ont été sélectionnées pour un séquençage d'exome. Afin d'identifier les variants causaux parmi le grand nombre de variations non-pathogènes détectées par analyse d'exome, une nouvelle approche intégrative a été développée. Cette approche combine l'analyse classique par filtration des données d'exome avec deux stratégies complémentaires : l'une basée sur les connaissances acquises des associations gène-phénotype (bases de données et ontologies); et de l'analyse de transcriptomes et particulièrement l'étude des profils d'expression des gènes au cours du développement cérébral.

Cette approche intégrative a permis d'identifier de nouveaux gènes de l'HPE associés à des phénotypes cliniques ou ayant un profil d'expression très similaire aux gènes connus de cette maladie. Plus précisément, en moyenne 11 variants candidats ont été identifiés par famille, la plupart hérités de parents asymptomatiques. L'analyse fine de ces candidats a permis de mettre en évidence l'implication probable de plusieurs variants par patient ayant une association forte avec la maladie. Une récurrence a été révélée pour 5 nouveaux gènes présentant des mutations prédites délétères dans plusieurs familles. Ainsi, nos résultats posent des arguments forts en faveur d'une origine multigénique de l'HPE.

Ces travaux nous ont permis de développer une nouvelle approche bio-informatique améliorant l'analyse de données d'exome dans les cas des maladies complexes. Appliquée à l'étude de l'HPE, elle a révélé l'existence de combinaisons de variants rares et délétères impliquées dans la maladie. Cette méthode a permis l'identification de nouveaux gènes candidats forts pour l'HPE et pourrait à terme constituer un outil essentiel pour le diagnostic. Au-delà de l'identification de nouveaux gènes candidats pour l'HPE, nous contribuons à comprendre les mécanismes moléculaires impliqués dans le développement du cerveau antérieur.

P324 : Découvertes fortuites de l'ACPA en prénatal : quand le fœtus permet le diagnostic parental. Questionnements éthiques à l'aube de l'exome prénatal, jusqu'où devons nous aller ?

Auteurs :

Rodolphe DARD (1), bérénice herve (2), delphine fauvert (2), séverine mouillère (2), thibaud quibel (3), Joëlle Roume (1), Denise Molina-Gomes (2), françois viallard (2)

1. Génétique médicale, CHI Poissy, POISSY, France
2. Cytogénétique, CHI Poissy, POISSY, France
3. Gynécologie Obstétrique, CHI Poissy, POISSY, France

Mots clefs : Diagnostic prénatal, NGS, exome, découverte fortuite, ACPA

Résumé :

La réalisation de l'analyse chromosomique sur puce à ADN (ACPA) en diagonstic prénatal sur prélèvement invasif est une pratique qui tend à se généraliser dans les centres multidisciplinaires de diagnostic prénatal. Son indication s'élargit progressivement à l'ensemble des prélèvements fœtaux quelle que soit l'indication. Inéluctablement, cette pratique s'accompagne de découvertes fortuites de pathologies ne concernant pas directement le fœtus (donc sans bénéfice direct attendu) mais possiblement le futur adolescent ou adulte, et souvent l'un des parents et sa famille.
Ces découvertes inattendues sont source de questionnement d'ordre déontologique et éthique, exacerbé en période prénatale. En l'absence de recommandations et législation claires sur le sujet, le médecin généticien est souvent confronté à une évaluation au cas par cas de la conduite à adopter. Si ces situations restent aujourd'hui anecdotiques, il y a tout à penser qu'elles risquent de devenir quotidiennes avec l'avènement du WGS. Il est d'autant plus important d'y réfléchir dès aujourd'hui pour anticiper nos pratiques futures.
Nous rapportons ici les cas de 2 familles pour lesquelles un prélèvement foetal invasif a été réalisé, respectivement pour hyperclarté nucale et antécédent d'amyotrophie spinale. Pour ces deux fœtus, le caryotype, l'ACPA et pour l'un la recherche d'amyotrophie spinale, n'ont pas mis en évidence de pathologie fœtale et n'ont pas remis en question la grossesse et son pronostic. En revanche, il a été mis en évidence dans la première famille la duplication *PMP22* responsable de la maladie de Charcot-Marie-Tooth de type 1A, et dans la seconde une délétion du gène de la Plakophiline-2 (*PKP2*), responsable de dysplasie arythmogène du ventricule droit (DAVD).
Ces CNVs d'une taille inférieure à 1500 kb ne sont pas nécessairement rendus aux patients (recommandations françaises). Compte tenu du bénéfice possible en cas d'atteinte parentale si le variant était transmis, il a été décidé de rendre ce résultat aux couples, et de réaliser l'étude parentale.
Ainsi, la duplication de *PMP22* a été retrouvée héritée du père, permettant le diagnostic clinique d'un conjoint pauci-symptomatique et ignorant sa pathologie, qui a pu intégrer de manière précoce des projets de recherche clinique. De la même manière la délétion *PKP2* dont les sujets atteints de DAVD sont à risque de mort subite à l'âge adulte, a été retrouvée héritée du père, qui présentait déjà des palpitations mais dont les explorations cardiaques étaient revenues négatives, et dont une sœur venait d'être appareillée par pacemaker avec défibrillateur implantable sans base génétique retrouvée à sa cardiopathie.
Pour ces deux cas de découverte fortuite, il y a eu un bénéfice immédiat de l'étude parentale. Toutefois, bien conscients que ces variants auraient pu être *de novo*, ou concerner des pathologies sans aucune prise en charge possible, cela soulève la nécessité d'une réflexion commune à l'aube du NGS prénatal.

P325 : Non-rendus du dépistage prénatal non invasif sur sang maternel (cfDNA): rôle de l' héparine de bas poids moléculaire

Auteurs :

Yohann Dabi (1), Sarah Guterman (1), Alexandra Letourneau (1), Jean-Marc Costa (2), Alexandra Benachi (1)

1. Gynécologie - Obstétrique, Hôpital Antoine Béclère, Clarmart, France
2. Laboratoire CERBA, Laboratoire CERBA, Clarmart, France

Mots clefs : cfDNA, héparine, non - rendu, dépistage prénatal, non invasif

Résumé :

Introduction: Dans 1 à 4% des cas de dépistage prénatal non invasif sur sang maternel (cfDNA), il n'est pas possible de rendre un résultat à la patiente. De récentes études posent la question du rôle d'un traitement par héparine de bas poids moléculaire (HBPM) dans ces échecs. L'objectif de notre étude est d'évaluer le lien entre traitement par HBPM chez la mère et résultats du cfDNA.
Méthodes: Les analyses du cfDNA ont été réalisées sur des échantillons tests avant et après administration d'héparine, en faisant varier les doses afin de simuler plusieurs situations cliniques. L'étude du cfDNA a été faite par séquençage à haut débit. Par ailleurs, nous analysons les caractéristiques et les résultats de patientes traitées par héparine ayant eu un non-rendu au premier prélèvement du cfDNA au sein du laboratoire CERBA. Le projet a été accepté par le comité local d'éthique.
Résultats: Au sein de tous les échantillons testés, aucune différence concernant le nombre de lectures ou la fraction fœtale n'a été retrouvée, avant et après administration HBPM. Parmi l'ensemble des échantillons analysés entre 2013 et 2016, il n'a pas été possible de rendre un résultat après le premier essai pour 86 d'entre eux. 52,9% des échecs peuvent être imputés à une faible fraction fœtale. Dix sept des 86 patientes (19,8%) étaient traitées par héparine au moment du prélèvement sanguin et environ la moitié pour une maladie auto-immune (lupus érythémateux disséminé, syndrome des anticorps antiphospholipides). Deux patientes ont accouché d'enfants présentant des malformations complexes. Sept patientes (41,2%) ont eu un deuxième échec de la technique.
Conclusion: Nos analyses in vitro tout comme l'analyse de notre cohorte permettent d'exclure l'héparine comme cause associée aux non rendus du cfDNA. L'hypothèse la plus probable à ce jour serait plutôt celle d'un échec causé par la pathologie indiquant le traitement et notamment les maladies auto-immunes.

P326 : Apport de l'analyse chromosomique sur puces à ADN dans la compréhension des mécanismes à l'origine des cardiopathies conotroncales dépistées en anténatal : bilan d'une étude multicentrique nationale incluant 235 fœtus.

Auteurs :

Marguerite Hureaux (1), Sarah Guterman (2), Bérénice Herve (3), Marianne Till (4), Sylvie Jaillard (5), Sylvia Redon (6), Mylene Valduga (7), Charles Coutton (8), Chantal Missirian (9), Fabienne Prieur (10), Brigitte Simon-Bouy (11), Claire Bénéteau (12), Paul Kuentz (13), Caroline Rooryck-Thambo (14), Nicolas Gruchy (15), Nathalie Marle (16), Morgane Plutino (17), Céline Dupont (18), Jacques Puechberty (19), Caroline Shluth-Bolard (4), Laurent Salomon (20), Damien Sanlaville (4), Valerie Malan (1), François Vialard (3)

1. Service d'Histologie-Embryologie-Cytogénétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
2. Service de Gynécologie Obstétrique, CHI de Poissy, St Germain, Poissy, France
3. Service d'Histologie-Embryologie-Cytogénétique, CHI de Poissy, St Germain, Poissy, France
4. Service de génétique, Hospices civils de Lyon, lyon, France
5. Service de cytogénétique, CHU de Rennes, Rennes, France
6. Laboratoire de Cytogénétique, Cytologie et Biologie de la Reproduction, CHRU Brest, Brest, France
7. Laboratoire de Génétique, CHU Brabois, Nancy, France
8. Service de Génétique, CHU Grenoble, Grenoble, France
9. Département de Génétique Médicale, CHU Timone Enfants, Marseille, France
10. Service de Génétique Clinique Chromosomique Moléculaire, CHU St Etienne, St Etienne, France
11. Génétique Constitutionnelle, Laboratoire de Biologie, Centre Hospitalier de Versailles, Le Chesnay, France
12. Service de Génétique Médicale, CHU Nantes, Nantes, France
13. Service de Génétique Biologique , CHU Besancon, Besancon, France
14. Service de génétique, CHRU Bordeaux, Bordeaux, France
15. Service de cytogénétique, CHU Caen, Caen, France
16. Laboratoire de génétique chromosomique et moléculaire, CHU Dijon, Dijon, France
17. Service de génétique, CHU Nice, Nice, France
18. Service de cytogénétique, Hôpital Robert Debré, Paris, France
19. Service de cytogénétique, CHU Montpellier, Montpellier, France
20. Service d'Obstétrique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France

Mots clefs : ACPA, Cardiopathie, Anténatal, isolée

Résumé :

Introduction : Les cardiopathies congénitales sont une des premières causes de décès néonataux dans les pays développés avec une incidence entre 0,5 et 1% des naissances. Elles peuvent être isolées (CCI) ou associées à d'autres malformations congénitales avec, dans le dernier cas, un pronostic plus sévère. Dans environ 20% des cas, une anomalie chromosomique, comme la trisomie 21, le syndrome de Turner, la trisomie 18 ou le syndrome de Di Georges, peut être identifiée, justifiant ainsi la réalisation d'un geste invasif durant la période prénatale. Plusieurs études ont montré, en diagnostic pré et post-natal, l'utilité de la réalisation d'une analyse chromosomique sur puce à ADN (ACPA) en plus d'un caryotype avec l'identification, en fonction de la présence ou non de signes d'appel échographiques, de 4 à 10% d'anomalies supplémentaires. L'objectif de cette étude est d'évaluer l'apport de l'ACPA dans la prise en charge des CC isolées (CCI) diagnostiquées en anténatal en routine diagnostique.
Matériel et méthode : Un appel à collaboration national a été réalisé afin de colliger l'ensemble des résultats obtenus par ACPA en cas de CCI pour les centres réalisant cette analyse de façon systématique. Seuls les fœtus ayant une CCI, diagnostiquée en 2015, sans anomalie identifiée au caryotype conventionnel ont été inclus dans cette étude. Ont été exclus de cette étude les cardiomyopathies, les situs inversus ainsi que les transpositions des gros vaisseaux isolées dont l'étiologie est reconnue comme n'étant pas chromosomique. Tous les types de prélèvements ont été inclus, ainsi que tous les types de résolution d'ACPA.
Résultats : Au total, 17 laboratoires français de Cytogénétique ont répondu à cet appel, et 235 fœtus ont été inclus dans cette série. La CCI était dans 16% une anomalie septale, 5,4% une obstruction du VD, 20% une obstruction du VG, 25% une pathologie conotroncale, 21% une anomalie complexe et dans 12% une autre malformation congénitale.
33 CNVs ont été rapportés par les laboratoires, 19 ont été considérées comme pathogènes, dont 16 avec un CNV connu, 6 comme un VOUS et 8 comme un variant. Le taux d'anomalie est donc 14,0%, variant de 0 à 16,7% (anomalie conotroncale). Parmi les CNVs connus, la délétion 22q11.2 a été rapportée 10 fois, la duplication 22q11.2 et la délétion 8p23, 2 fois chacun.
Discussion : En ne considérant que les CNVs pathogènes, le taux d'anomalies surajouté en réalisant une ACPA en plus d'un caryotype est de 8,1%, un taux comparable à celui de la littérature entre 3 et 16% (Méta-analyse de Jansen *et al*, 2015 : 6,4%). Ce taux est de 3,1% en excluant les anomalies de la région 22q11.2, soit un taux proche des 3,4% rapportées par Jansen *et al*. Ceci démontre donc l'utilité de cette technique en cas de CCI, et démontre que les anomalies de la région 22q11.2 ne sont pas les seules anomalies à rechercher dans cette indication en diagnostic prénatal.

P327 : UHRF1 (« ubiquitin-like with PHD and ring finger domains 1 ») coordonne l'extinction épigénétique de MIR137HG, un gène suppresseur de tumeur réprimé dans différents types de tumeurs solides.

Auteurs :

Marlène LE TERTRE (1), Chandran KA (1), Maxime LECOURT (1), Laurent CORCOS (1), Claude FEREC (1), Gérald LE GAC (1)

1. Inserm UMR 1078, Laboratoire de Génétique Moléculaire et Histocompatibilité, CHRU de Brest, Hôpital Morvan, Université Bretagne Loire – Université de Bretagne Occidentale, Etablissement Français du Sang – Bretagne, Institut Brestois Santé Agro – Matière, Brest, France, Brest, France

Mots clefs : Epigénétique, cancérogenèse, gène suppresseur de tumeur, micro-ARNs, UHRF1

Résumé :

Introduction : Les micro-ARNs (miRs) modulent de manière physiologique l'expression de nombreux gènes humains. Ils participent ainsi à des fonctions essentielles de l'organisme, telles que la régulation du cycle cellulaire. La répression de plusieurs dizaines de miRs est observée de manière récurrente et précoce dans différents types de tumeurs. Ici, nous nous sommes intéressés au gène *MIR137HG* qui code le miR-137 et qui est épigénétiquement réprimé au niveau de tumeurs colorectales bénignes et malignes ainsi que dans diverses autres tumeurs solides. La restauration de l'expression du miR-137 dans des lignées cancéreuses humaines engendre une diminution de la prolifération et un arrêt du cycle cellulaire au stade G0/G1. Ces observations suggèrent que *MIR137HG* est un gène suppresseur de tumeur.
Objectifs : Le mécanisme épigénétique qui conduit à la répression du gène *MIR137HG* demeure inconnu. Cette étude avait pour objectifs : i) de vérifier l'extinction précoce du gène *MIR137HG* dans des tissus tumoraux colorectaux, ii) de confirmer ses propriétés anti-tumorales, et iii) d'identifier certaines des protéines et enzymes qui contribuent à sa répression.
Résultats : L'immunoprecipitation de la chromatine de cellules HCT116 a révélé la présence d'UHRF1, DNMT3B (et non DNMT1 et DNMT3a) et des répresseurs transcriptionnels HDAC1 et G9a sur le promoteur du gène *MIR137HG.* Ces mêmes acteurs protéiques de la répression génique ont été retrouvés au niveau du gène *PPARG*, un gène suppresseur de tumeur bien connu. Par des expériences de pyroséquençage à partir d'ADN traité au bisulfite et de Western Blot sur un panel de tumeurs colorectales, nous avons révélé une corrélation entre la surexpression de la protéine UHRF1 et l'hyperméthylation du gène *MIR137HG*. Un résultat opposé a été obtenu pour les tissus sains colorectaux appariés. Nous avons également démontré que le miR-137 régulait négativement Cdk6 (cyclin dependent kinase 6) et Cdc42 (cell division cycle 42). Cdk6 est une kinase importante pour la progression de la phase G1 et la transition G1/S du cycle cellulaire. Cdc42 est un membre connu de la famille des Rho GTPases, qui régule différentes voies de signalisation contrôlant diverses fonctions cellulaires telles que la morphologie cellulaire, la migration, l'endocytose et la progression du cycle cellulaire. De plus, l'expression ectopique du miR-137 inhibe la prolifération et entraine la senescence des cellules HCT116.
Conclusion : Nous apportons ici l'évidence que la protéine UHRF1 coordonne la mise sous silence épigénétique du gène *MIR137HG*. La surexpression de la protéine UHRF1 pourrait également être impliquée dans l'inhibition génique d'autres miRs gènes suppresseurs de tumeurs, mécanisme qui constituerait un évènement précoce de la cancérogenèse. Actuellement, nous étudions d'autres miRs possédant des propriétés anti-cancéreuses reconnues ainsi que d'autres types de tumeurs solides afin de vérifier cette hypothèse.

AGHM_Epigenetique-LE TERTRE Marlène.docx

P328 : Le séquençage haut débit : Préférences et expériences des parents d'enfants atteints de maladies rares. Une recherche mixte interdisciplinaire

Auteurs :

Aline CHASSAGNE (1), Aurore PELISSIER (2), Françoise HOUDAYER (3), Elodie GAUTIER (4), Elodie CRETIN (5), Christel THAUVIN-ROBINET (4), Lorraine JOLY (6), Christine JUIF (6), Anne-Sophie LAPOINTE (7), Christine PEYRON (8), Laurence FAIVRE (6)

1. CIC-Inserm 1431, CHU Besancon et LASA 1 Laboratoire of Sociologie et of Anthropologie (LaSA), EA3189, Besançon, France
2. Laboratoire d'Économie de Dijon (LEDI) - EA7467, Université de Bourgogne France-Comté, Dijon, France
3. centre de référence maladies du développement, CHU Bron, Lyon, France
4. Centre de Référence Anomalies of the Développent et Syndromes Malformatifs, CHU Dijon, Dijon, France
5. CIC-Inserm 1431, CHU Besancon , besancon, France
6. Centre de Référence Anomalies du développement et Syndromes Malformatifs, CHU Dijon, Dijon, France
7. Alliance Maladies Rares, APHP, Paris, France
8. Laboratoire d'Économie de Dijon (LEDI) - EA7467, Université Bourgogne Franche Comté, Dijon, France

Mots clefs : nouvelles technologies, éthique, vécu, maladies du développement, sociologie, économie de la santé

Résumé :

Le séquençage à haut débit (SHD) est en voie de transformer considérablement le domaine des pathologies du développement, et le diagnostic en génétique médicale de manière plus générale. Avant le transfert en pratique quotidienne du SHD d'exome, en particulier pour l'expertise diagnostique, il est nécessaire de pouvoir anticiper l'information à communiquer aux patients au regard des différentes catégories de résultats possibles (variants inconnus, incertains, données secondaires) pour obtenir leur consentement éclairé pour la réalisation de l'examen. L'un des principaux défis est de délivrer une information de qualité en adéquation avec les attentes et les besoins des patients au cours de leur trajectoire de soin.
Pour étudier ces enjeux éthiques, sociaux et économiques, une méthodologie mixte - basée sur une approche quantitative menée en amont du SHD et une approche qualitative déployée en aval du SHD - a été mise en œuvre par un groupe pluridisciplinaire composé de chercheurs en sciences humaines et sociales et d'associations de patients dans deux centres d'expertise pour les maladies rares en France.
528 parents d'enfants atteints de pathologies du développement, qui étaient des candidats potentiels pour le séquençage d'exome (WES), ont rempli des questionnaires qui visent à révéler leurs préférences concernant la nature des résultats à fournir et leur annonce. Nous avons pu montrer que les parents souhaitaient disposer d'une information complète, y compris vis-à-vis des résultats incertains et des résultats secondaires, et qu'ils étaient aussi favorables à une réanalyse annuelle automatique. L'étude a souligné l'importance d'apprendre aux parents à mieux comprendre l'information génétique.
Dans le cadre de l'étude qualitative, 57 parents ont été interviewés juste après l'annonce des résultats de SHD afin de comprendre de manière approfondie l'expérience des familles. L'attente principale était de donner un nom, de trouver « la cause ». Les parents rencontrés évoquaient leur besoin de pouvoir anticiper l'avenir au mieux pour leur enfant, et de pouvoir s'identifier à un groupe. Quel que soit le type résultat (positif, incertain ou négatif), le SHD a été considéré comme une étape importante et non comme une fin en soi et a donné naissance à des sentiments ambivalents allant de la satisfaction aux inquiétudes.
L'un des apports de notre analyse mixte et interdisciplinaire fut de saisir toute la diversité des préférences, des attentes et des vécus des parents, mais aussi de pouvoir dégager des points saillants pour améliorer leur accompagnement. Par exemple, l'accès au « monde » de la génétique et à son langage nécessiterait de dédier une consultation à l'explication des résultats possibles suite au SHD, en amont du consentement. Ensuite, l'engagement et le soutien proposé par les équipes dont les parents soulignent les bienfaits doit s'étendre à différents moments du suivi, notamment lors de la période d'attente des résultats, et après leur annonce.

P329 : Présentation du phénotype foetal du syndrome de Treacher Collins, à propos d'une série de 10 fœtus.

Auteurs :

Constance Wells (1, 2), Marion Imbert Bouteille (1), Tania Attié-Bitach (3, 4), Nicole Bigi (2), Maryse Bonnière (5), Bettina Bessières (5), Sophie Blesson (6), Laurence Loeuillet (5), Philippe Loget (7), Dominique Martin Coignard (8), Joelle Roume (9), Stanislas Lyonnet (10), Philippe Khau Van Kien (11), Christine Coubes (1), Patricia Blanchet (1), Collet Corinne (12), David Geneviève (1), Marie Josée Perez (2)

1. Département de Génétique Médicale, Maladies Rares et Médecine Personnalisée, CHU de Montpellier, Montpellier, France
2. Unité de Foetopathologie, CHU de Montpellier, Montpellier, France
3. Unité d'Embryofoetopathologie, Service d'Histologie-Embryologie-Cytogénétique, Necker Enfants Malades, Paris, France
4. INSERM U-1163, Institut Imagine, Necker Enfants Malades, Paris, France
5. Service d'Histologie-Embryologie-Cytogénétique, Necker Enfants Malades, Paris, France
6. Service de Génétique, Hôpital Bretonneau, CHRU de Tours , Tours, France
7. Service d'anatomie et cytologie pathologiques Hôpital Pontchaillou, CHU de Rennes, Rennes, France
8. Service de Génétique, Centre Hospitalier du Mans, Le Mans, France
9. Unité de Génétique Médicale, Centre Hospitalier Intercommunal Poissy, Saint Germain en Laye, France
10. Institut Imagine, Service de Génétique Médicale, Necker Enfants Malades, Paris, France
11. Unité de Génétique médicale et Cytogénétique, CHU de Nîmes - Hôpital Caremeau, Nîmes, France
12. Service de Biochimie et biologie moléculaire, Hôpital Lariboisière, Paris, France

Mots clefs : Syndrome de Treacher Collins, Examen foetopathologique, TCOF1

Résumé :

Le syndrome de Treacher-Collins/Franceschetti (STC, MIM 154500) appartient au groupe hétérogène des dysostoses mandibulo-faciales. Les signes classiques majeurs du STC sont l'hypoplasie mandibulaire et malaire, les fentes palpébrales orientées en bas et en dehors ainsi qu'une microtie. Trois gènes sont connus pour être responsables de STC : *TCOF1* (MIM 606847), *POLR1D* (MIM 613715) et *POLR1C* (MIM 610060). Ces 3 gènes expliquent plus de 90% des causes de STC de forme classique. A cette hétérogénéité génétique s'associe une variabilité phénotypique, sans corrélation génotype-phénotype connue. Lorsque la ou les mutations familiales sont connues, le diagnostic prénatal ne se limite pas à l'analyse moléculaire, car les mutations ne présagent pas de la gravité du phénotype. Le diagnostic échographique est possible, mais peut être faussement rassurant dans les formes frustres. Lorsque le STC est évoqué en prénatal, le pronostic est principalement lié à la sévérité du phénotype. Il y a peu de cas fœtaux ayant eu un examen foetopathologique décrits dans la littérature.
Cette étude rétrospective multicentrique est issue d'un travail collaboratif avec les membres de la Société Française de Fœtopathologie (SOFFOET). Les données échographiques et de l'examen fœtopathologique ont été recueillies pour chaque cas. Le diagnostic de STC reposait sur la présentation clinique du fœtus. L'ensemble des données a été comparé aux cas prénataux précédemment publiés et aux études cliniques post-natales. Les échelles post-natales publiées ont été appliquées à ces cas prénataux pour évaluer leur pertinence clinique en anténatal.
Nous avons rassemblé 10 fœtus : huit issus d'une interruption médicale de grossesse, un fœtus mort in utero et un nouveau-né décédé en période néonatale précoce. Le diagnostic avait été évoqué à l'échographie pour 9 des 10 fœtus. L'examen fœtopathologique a retrouvé les éléments phénotypiques ayant fait suspecter échographiquement le STC chez ces 9 fœtus et a permis d'évoquer ce diagnostic chez le dernier fœtus. Six fœtus ont bénéficié d'une analyse moléculaire, trois étaient mutés dans *TCOF1* et un fœtus était muté dans *EFTUD2.* Pour quatre fœtus, l'ADN était indisponible ou en quantité et qualité insuffisantes pour confirmer moléculairement le diagnostic de STC. Cinq cas avaient des signes rares du STC tels que des malformations cardiaques, rénales, rachidiennes ou des organes génitaux externes. Huit des dix fœtus avaient des scores de gravité sévères. Nous proposons un score adapté à l'anténatal, au vu de l'absence de certains signes en prénatal.
Les fœtus ayant un phénotype de STC diagnostiqués en anténatal ont un phénotype sévère, confirmés par l'examen fœtopathologique. Les scores de gravité utilisant les signes détectables à l'échographie peuvent être utilisés en prénatal. Ils peuvent venir en complément du diagnostic moléculaire lorsque celui-ci est fait en prénatal.

Résumé assises STC CW.docx

P330 : Etude de la survie des patients atteints de mucoviscidose en France : importance de la prise en compte des données génétiques

Auteurs :

Carine L'Hostis (1), Clémence Dehillotte (2), Lydie Lemonnier (2), Gil Bellis (3), Gilles Rault (4), Sophie Ramel (5), Pierre-Régis Burgel (6), Claude Férec (1), Virginie Scotet (1)

1. Inserm, UMR 1078, Brest, France
2. Registre Français de la Mucoviscidose, Association Vaincre La Mucoviscidose, Paris, France
3. , Institut National d'Etudes Démographiques, Paris, France
4. , CRCM, Roscoff, France
5. , CRCM, Roscoff, France
6. CRCM , Hôpital Cochin, AP-HP, Paris, France

Mots clefs : Mucoviscidose, gène CFTR, survie, registre

Résumé :

Introduction : La mucoviscidose est une maladie autosomale récessive causée par des mutations dans le gène *CFTR,* qui présente une forte hétérogénéité allélique. L'impact clinique de certains variants reste difficile à évaluer à ce jour, or les patients portant de tels variants sont souvent inclus dans les registres de mucoviscidose et donc dans les études de survie qui en découlent. L'objectif de cette étude était d'étudier, par deux méthodes développées récemment, la survie des patients atteints de mucoviscidose en France, de manière globale mais également en se limitant aux formes classiques de la maladie.
Méthodes : La survie a été estimée à partir des données du Registre Français de Mucoviscidose en appliquant : 1) Une méthode transversale, basée sur un modèle de Cox à entrée retardée, permettant, à partir de l'observation de la structure de la population atteinte à un moment donné, d'obtenir une médiane de survie prédite [Sykes *et al.* J Clin Epidemiol 2016]. 2) Une méthode longitudinale, basée sur la méthode de Kaplan-Meier, permettant, à partir du suivi d'une cohorte de naissance, de tracer une courbe de survie et d'obtenir la médiane de survie réelle lorsque 50 % des patients de la cohorte sont décédés. La médiane de survie ne pouvant être estimée pour les cohortes de courte durée de suivi, un modèle de Weibull a été appliqué pour projeter la courbe de survie au-delà de la période de suivi et ainsi prédire la médiane de survie [Jackson *et al.* Thorax 2011]. Les analyses de survie ont été menées globalement, par sexe, puis ont été restreintes aux patients présentant des formes classiques de mucoviscidose (patients portant deux mutations causales (« CF-causing ») ou deux exemplaires de la mutation majoritaire p.Phe508del).
Résultats : La méthode transversale a été appliquée sur la période 2011-2015, durant laquelle 7199 patients ont été enregistrés dans le Registre et 281 décès sont survenus. La médiane de survie prédite était de 57,6 ans (IC à 95 %: [52,2-67,1]). La méthode longitudinale a, elle, pu être appliquée sur la première cohorte de naissance formée depuis la création du Registre (cohorte 1992-1996). Cette cohorte comprenait 971 patients parmi lesquels 91 sont décédés, et la médiane de survie était prédite à 49,3 ans (IC à 95 %: [40,7-59,6]). Les estimations obtenues par les deux méthodes étaient de quatre à huit ans plus faibles chez les patients portant deux mutations causales (53,2 et 41,8 ans respectivement) et encore plus faibles chez les patients homozygotes pour la mutation p.Phe508del (52,2 et 38,6 ans). Les indicateurs de survie étaient systématiquement plus faibles chez les femmes.
Discussion : Cette étude montre qu'il est important de bien spécifier la méthode d'analyse de survie utilisée et de définir la population étudiée. En raison de l'hétérogénéité des patients inclus dans les registres, les études de survie restreintes aux formes classiques de mucoviscidose devraient faciliter les comparaisons internationales.

P331 : Malformation cardiaque congénitale isolée en période prénatale : résultats d'une étude prospective par ACPA systématique sur une cohorte de 70 patientes

Auteurs :

Flora ROBLOT (1), Sylvie JAILLARD (2), Gwenaelle LE BOUAR (3), Claire COMBESCURE (4), Chloé QUELIN (1), Mélanie FRADIN (1), Florence DEMURGER (1), Marion BEAUMONT (2), Erika LAUNAY (2), Adeline BASQUIN (5), Anne-Sophie LEBORGNE (6), Josette LUCAS (2), Sylvie ODENT (1), Emmanuel OGER (7), Marc-Antoine BELAUD-ROTUREAU (2), laurent PASQUIER (8, 9)

1. Service de génétique clinique, CLAD Ouest, Hôpital Sud, CHU Rennes, Rennes, France
2. Laboratoire de cytogénétique, Pontchaillou, CHU Rennes, Rennes, France
3. Centre Pluridisciplinaire de Diagnostic Prénatal, Hôpital Sud, CHU Rennes, Rennes, France
4. Centre Pluridisciplinaire de Diagnostic Prénatal, Hôpital Yves Le Foll, Saint-Brieuc, France
5. Unité de cardiologie pédiatrique , Pontchaillou, CHU Rennes, Rennes, France
6. Centre Pluridisciplinaire de Diagnostic Prénatal, Clinique Mutualiste La Sagesse, Rennes, France
7. CIC INSERM 1414, Pontchaillou, CHU Rennes, Rennes, France
8. Service de Génétique Clinique, Hôpital Sud, CHU Rennes, Rennes, France
9. Filière DEFISCIENCE, CHU Rennes, Rennes, France

Mots clefs : Malformation cardiaque congénitale, ACPA, diagnostic prénatal

Résumé :

Les malformations cardiaques congénitales (MCC) figurent parmi les malformations les plus fréquentes et sont estimées à 1% des naissances vivantes soit environ 5000 enfants par an.
Pour ces enfants et leurs familles, les enjeux liés à la morbi-mortalité cardiaque elle-même sont majeurs. D'autres enjeux pronostiques, dont un trouble du neuro-développement, sont parfois identifiés notamment lorsque ces MCC sont liées à une origine chromosomique. De nombreux loci chromosomiques ont ainsi été rapportés dans la littérature médicale : 22q11, 4q35, 7q11, 11q23, 1p36, 8p23…. Il est donc particulièrement important de distinguer les situations où les MCC sont idiopathiques et isolées des situations où elles sont en rapport avec une anomalie chromosomique, notamment dans le cadre du diagnostic prénatal.
Actuellement, selon le guide de bonnes pratiques de l'analyse chromosomique sur puce à ADN (ACPA) en période prénatale, la réalisation d'une ACPA en cas de syndrome polymalformatif fœtal est indiquée et largement mise en œuvre. Par contre, l'indication d'une ACPA après le diagnostic d'une MCC d'allure isolée reste discutée, au cas par cas au sein des centres pluridisciplinaires de diagnostic prénatal (CPDP) qui peuvent avoir des attitudes assez variables. Les conditions de réalisation d'une ACPA dans le cadre d'une malformation isolée restent imprécises (gravité, expérience personnelle, possibilités techniques ou financières ?) et non encore fondées sur une argumentation médicale et scientifique.
Notre étude prospective rapporte les résultats de la réalisation systématique d'une ACPA à partir d'un prélèvement de liquide amniotique sur une cohorte de 70 femmes enceintes, après information et consentement adaptés, pendant une période de 3 ans dans les CPDP de Rennes et Saint-Brieuc, pour lesquelles une malformation cardiaque congénitale fœtale isolée a été confirmée.
Nous avons également comparé les taux d'anomalies identifiées par caryotype + FISH 22q11 versus ACPA ; les données échographiques cardiaques pré et postnatales ou avec les données fœtopathologiques (si IMG); et la nature des déséquilibres chromosomiques avec le type de MCC.
Nous discutons de la nouvelle stratégie prénatale, de l'attitude médicale à anticiper lors de la découverte de VOUS en période prénatale et des limites de cette étude liée à la taille de la cohorte.

Abstract CAPA V1 LP.docx

P332 : Duplication de 377 kb en 18q23 héritée du père chez un fœtus de sexe masculin avec atrésie pulmonaire à septum ouvert et rein pelvien unique

Auteurs :

Valentine Marquet (1), Sylvie Bourthoumieu (1), Sophie Martin (2), Jean-Luc Eyraud (3), Catherine Yardin (1)

1. Service de cytogénétique, Hôpital de la Mère et de l'Enfant, CHU de Limoges, Limoges, France
2. Service d'anatomie pathologique, Centre de Biologie et de Recherche en Santé, CHU de Limoges, Limoges, France
3. Service de gynécologie-obstétrique, Hôpital de la Mère et de l'Enfant, CHU de Limoges, Limoges, France

Mots clefs : 18q23, ACPA prénatale, duplication

Résumé :

En contexte prénatal, l'interprétation des CNV mis en évidence en analyse chromosomique par puce à ADN (ACPA) peut s'avérer particulièrement difficile, notamment pour les petites duplications de moins d'1 Mb.
Nous rapportons un fœtus de sexe masculin chez qui ont été identifiés à l'échographie du 2ème trimestre une atrésie pulmonaire à septum ouvert (APSO) avec dilatation de l'aorte ascendante et valve aortique sténosante, et un rein unique pelvien droit. Les deux parents présentent une déficience intellectuelle, associée chez la mère à une sténose valvulaire pulmonaire modérée et une scoliose dorso-lombaire. L'ACPA réalisée à partir du liquide amniotique a révélé une duplication de 377 kb en 18q23 héritée du père et impliquant 5 gènes dont 2 gènes répertoriés dans la base de données OMIM : CTDP1 et TXNL4A.
Les parents ont demandé une interruption médicale de grossesse. L'examen fœtopathologique a révélé un fœtus de sexe masculin eutrophe, confirmé l'existence d'une APSO avec dysplasie de la valve aortique et CIV bourgeonnante, et retrouvé une dysmorphie (hypertélorisme, nez large, philtrum long et plat, lèvre supérieure fine et palais ogival), une brachymésophalangie des 5èmes doigts, un pied droit varus, une fossette sacrée borgne, des poumons bilobés, un rein en fer à cheval et une cryptorchidie.
Un fœtus porteur d'une duplication de 450 kb en 18q23 impliquant les mêmes gènes a été rapporté dans la littérature (Isidor B, Winer N, Joubert M, Boisseau P, Le Caignec C, Bocéno M, Fallet C, David A, Rival JM. Inherited 18q23 duplication in a fetus with multiple congenital anomalies. Eur J Med Genet. 2008 May-Jun;51(3):231-8.) Il présentait des malformations cardiaques similaires (CIV, arche aortique hypoplasique) des malformations cérébrales (agénésie du corps calleux, hypoplasie cérébelleuse, agénésie postérieure du vermis, hétérotopie nodulaire, hypoplasie des noyaux gris sous-corticaux et lissencéphalie), pulmonaires, digestives et squelettiques, associées à une dysmorphie cranio-faciale.
Nous rapportons donc le deuxième fœtus avec syndrome polymalformatif associé à une duplication en 18q23 impliquant les gènes CTDP1 et TXNL4A, et hérité d'un père sans malformation. Plusieurs éléments phénotypiques communs à ces deux fœtus sont en faveur de la pathogénicité de ce CNV.

résumé pour assises 2018 LA.doc

P333 : Prise en charge des couples avec un lien de parenté en diagnostic pré-implantatoire (DPI)

Auteurs :

Victoria Viart (1), Florielle Saguet (1), Aliya Ishmukhametova (1), Stéphanie Plaza (1), Garance Verrière (1), Michel Koenig (1, 2), Mireille Claustres (1, 2), Anne Girardet (1, 2)

1. Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU Montpellier, Montpellier, France
2. Laboratoire de Génétique de Maladies Rares, Université de Montpellier, Montpellier, France

Mots clefs : Diagnostic pré-implantatoire, DPI, consanguinité, marqueurs microsatellites, informativité

Résumé :

En France, le DPI des maladies monogéniques repose principalement sur la technique de PCR multiplex permettant de réaliser simultanément, sur 1 seule cellule embryonnaire, une analyse génétique indirecte *via* l'étude de plusieurs marqueurs microsatellites et d'une analyse directe de la/des mutation(s) causale(s).

A ce jour, dans le centre de DPI de Montpellier, l'étude de faisabilité génétique pré-DPI a été réalisée pour 189 couples à risque de transmettre une maladie autosomique récessive. Parmi ces familles, 17 couples (9%) présentaient un lien de parenté (cousins germains le plus souvent). L'étude génétique a montré que douze de ces couples présentaient le même haplotype associé à la mutation causale, pouvant être à l'origine de difficultés d'interprétation des résultats lors des DPI, parmi lesquelles :
- un embryon atteint (ayant hérité des 2 haplotypes liés au gène muté des deux membres du couple) est indiscernable d'un embryon « anormal » comprenant un seul haplotype. Ce premier cas relève seulement d'une difficulté de génotypage sans conséquence pour le couple, puisque ces embryons ne sont, de toute façon, pas transférables.
- un embryon hétérozygote (porteur d'un haplotype lié au gène muté hérité de l'un des 2 parents, et d'un haplotype lié au gène sain de l'autre parent) est indiscernable d'un embryon présentant 2 haplotypes hérités d'un parent et 1 haplotype de l'autre, ou d'1 embryon présentant une contamination par de l'ADN maternel.
Ces situations sont loin d'être exceptionnelles dans le cadre du DPI et peuvent conduire, chez ces couples, au transfert d'embryons interprétés comme « sains » alors qu'ils pourraient être « anormaux » (risque de ne non-implantation), voire atteints.

Depuis 2015, afin de déterminer précisément le nombre d'haplotypes transmis par chacun des parents dans les embryons (et/ou observer une éventuelle contamination maternelle), nous recherchons des marqueurs sur le chromosome d'intérêt, pour lesquels le couple présente 4 allèles de taille différente.
Lorsque le gène d'intérêt est situé sur un chromosome pour lequel des gènes ont déjà fait l'objet de mises au point lors de demandes de DPI antérieures dans notre centre, nous utilisons les protocoles de PCR multiplex déjà développés, ce qui permet le plus souvent de trouver au moins un marqueur totalement informatif.
Dans le cas contraire, nous recherchons dans les banques de données des marqueurs éloignés du gène d'intérêt et les testons pour identifier au moins 1 marqueur informatif.
Le ou les marqueurs identifiés sont alors intégrés dans la PCR multiplex.

Nous avons appliqué cette stratégie à des couples présentant des mutations dans les gènes *CFL2*, *CFTR*, *ERCC2*, *HBB*, *MAN2B1*, *NPHS1* et *TCIRG1*.
A ce jour, ces mises au point ont été utilisées lors de 3 cycles de DPI pour 2 couples. Une grossesse est actuellement en cours pour un couple présentant une double indication drépanocytose et myopathie à némaline.

Abstract_Assises_Viart_2018.docx

P334 : 2002-2016 : 15 ans d'expérience de Diagnostic préimplantatoire (DPI) des maladies monogéniques au CHU de Montpellier

Auteurs :

Aliya Ishmukhametova (1), Stéphanie Plaza (1), Victoria Viart (1), Garance Verriere (1), Florielle Saguet (1), Samir Hamamah (2), Isabelle Coupier (3), Emmanuelle Haquet (3), Carole Corsini (3), Tal Anahory (4), Marjolaine Willems (3), Mireille Claustres (1), Anne Girardet (1)

1. Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHRU de Montpellier, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
2. Département de Biologie de la Reproduction , CHRU de Montpellier, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
3. Département de Génétique Médicale, CHRU de Montpellier, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
4. Département de Gynécologie Obstétrique, CHRU de Montpellier, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France

Mots clefs : Diagnostic préimplantatoire, maladies monogéniques, bilan d'activité

Résumé :

Depuis 2002, le CHU de Montpellier est autorisé à pratiquer le diagnostic préimplantatoire (DPI). Nous rapportons ici le bilan de 15 ans d'expérience de DPI des maladies monogéniques au centre de Montpellier de 2002 à 2016.

Au début de l'activité, nous avons commencé à développer des DPI pour les maladies monogéniques les plus fréquentes (mucoviscidose, dystrophie musculaire de Duchenne, maladie de Huntington, etc…), puis l'activité s'est élargie aux indications très rares avec des diagnostics mis au point pour un seul couple.

Pour chaque maladie, une PCR multiplex basée sur l'étude de marqueurs microsatellites localisés dans ou à proximité du gène d'intérêt est mise au point. Lorsque la/les mutation(s) familiale(s) causale(s) sont étudiables à l'échelle unicellulaire, leur détection est combinée à l'analyse indirecte. Fin 2016, des protocoles de DPI avaient été mis au point pour 74 maladies.

Dans notre centre, 1372 couples ont fait une demande de DPI pour 244 indications différentes : 50,4% pour une maladie de transmission autosomique dominante, 29,2% pour une maladie autosomique récessive et 20,3% pour une maladie liée à l'X. La mucovicidose (170 couples), la dystrophie myotonique de type 1 (149 couples), la maladie de Huntington (134 couples), le syndrome de l'X Fragile (95 couples) et l'amyotrophie spinale infantile (89 couples) représentent les demandes les plus fréquentes. Sur les 1372 demandes initiales, 1249 couples ont débuté les tests préalables à tout DPI (bilans bio-cliniques, caryotypes, sérologies…), 428 couples n'étaient pas éligibles pour diverses raisons (réserve ovarienne altérée, indication refusée par le CPDPN, diagnostic non disponible dans notre centre au moment de la demande…), 821 étaient *a priori* éligibles pour un DPI, et une étude de faisabilité génétique pré-DPI a été réalisée pour 571 couples. Un total de 1057 cycles de DPI a été initié pour 447 couples parmi lesquels 183 ont été annulés en cours de stimulation ovarienne (hypo/hyper-réponse). Sur les 4735 embryons biopsiés à J3, 4278 ont été diagnostiqués (43% sains, 35% atteints et 22% non transférables car présentant des anomalies du nombre d'haplotypes), 1144 embryons ont été transférés et 247 bébés sont nés vivants (45 après DPI pour la maladie de Huntington, 45 pour la mucoviscidose, 23 pour la dystrophie myotonique de type 1, 21 pour l'amyotrophie spinale infantile, et 113 pour 33 autres indications).

De 2002 à 20016, nous avons fait évoluer nos protocoles afin d'accepter désormais la majeure partie des demandes de DPI (mutations *de novo* par exemple). Au fil du temps, nous avons réduit les délais de mise au point pour les « nouvelles indications » de manière à prendre en charge plus rapidement les couples demandeurs d'un DPI.

DPI MPL 15 ans .docx

P335 : Coblance : objectif 2000 patients en 2018

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, biomarqueurs

Résumé :

Le cancer de la vessie représente la 6ème cause de cancer en Europe et la 2ème cause de cancer de l'appareil urinaire. Ce cancer s'accompagne de longues périodes de suivi, de taux élevés de récidives, d'interventions chirurgicales multiples et de surveillance invasive qui en font un des cancers les plus coûteux. Actuellement, il n'existe aucun traitement ciblé efficace ni de marqueur prédictif de récidive ou de progression de la maladie.
COBLAnCE (COhorte for BLAdder canCEr) est une cohorte prospective de 2000 patients nouvellement diagnostiqués pour un cancer de vessie et suivis pendant 6 ans. Des données cliniques, environnementales, économiques, et de qualité de vie sont collectées à l'inclusion et durant le suivi. Ces questionnaires sont complétés au cours d'un entretien en face à face avec le patient, d'autoquestionnaires envoyés par courrier postal, et du dossier médical. Des échantillons biologiques (sang, urine, ongle et tissu tumoral) sont également collectés et permettent de réaliser des extractions moléculaires (ADN, ARN et protéines).
COBLAnCE compte 14 centres de soins actifs (publics et privés). A ce jour,q1610 patients ont été recrutés. Ce sont majoritairement des hommes (84%), l'âge moyen au diagnostic est de 68 ans (SD : 11ans) et 64% des patients présentaient à l'inclusion une tumeur n'envahissant pas le muscle vésical. Chez ces patients, 24% ont développé au moins une récidive et/ou progression de la maladie. Chez les patients atteints d'une tumeur invasive, 25% ont présenté une progression de la maladie.
Le nombre de visites de suivi médical réalisées ainsi que le taux de retour des autoquestionnaires de qualité de vie sont satisfaisants (respectivement 69% des visites attendues et 64% des retours attendus). Les acides nucléiques et les protéines extraits des échantillons biologiques sont de très bonne qualité et leur quantité permet d'envisager des analyses moléculaires mettant en œuvre les nouvelles technologies. L'organisation développée pour coordonner COBLAnCE a conduit à l'obtention de la certification ISO9001-2015 des banques biologiques et des données associées en Mars 2017.
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

COBLAnCE2017.doc

P336 : Etude du polymorphisme IVS8 TGmTn chez une population Tunisienne asthmatique

Auteurs :

Imen WAHABI (1), Sondess HADJ FREDJ (2), Rym DABBOUBI (2), Fatma KHALSI (3), Khedija BOUSSETTA (3), Taieb MESSAOUD (2)

1. Laboratoire de Biochimie et de Biologie moléculaire LR00SP03, Hôpital d'Enfants Bechir Hamza de Tunis-Tunisie, Ben Arous, Tunisie
2. Laboratoire de Biochimie et de Biologie moléculaire LR00SP03, Hôpital d'Enfants Bechir Hamza de Tunis-Tunisie, Tunis, Tunisie
3. Service de pédiatrie, Hôpital d'Enfants Bechir Hamza de Tunis-Tunisie, Tunis, Tunisie

Mots clefs : Asthme- gène CFTR- IVS8 TGmTn

Résumé :

L'asthme est une maladie multifactorielle d'origine génétique, dont l'expression est largement fonction de facteurs acquis, souvent liés à l'environnement. Elle a été définie comme étant une affection inflammatoire chronique des voies aériennes. L'asthme est la maladie la plus commune associée au gène *CFTR* (Cystic Fibrosis Transmenbrane Conductance regulator). Elle est classée parmi les formes atypiques de la mucoviscidose.
Le présent travail consiste à étudier, pour la première fois en Tunisie, la répartition génotypique et allélique du motif répété IVS8 TGmTn localisé au niveau de l'intron 8 du gène *CFTR* au sein d'une population asthmatique.
L'analyse des nombre de répétition des motifs TGm et Tn a été effectuée par la technique de séquençage chez 101 sujets asthmatiques et 103 témoins.
Les résultats ont montré la prédominance de l'allèle T7 aussi bien chez les patients que chez les témoins. De même pour l'allèle TG11 qui représente l'allèle majeur des deux groupes étudiés. Toutefois, il est à noter que l'allèle T7 est plus exprimé chez les patients par rapport au groupe témoin (80.69% vs 68.44% respectivement, P= 0.0049), de même pour le génotype T7/T7 (63.34%, $p < 0.0001$). Nos résultats ont également montré une différence significative dans la distribution de l'allèle TG12 au sein des deux groupes. En effet, chez les patients nous avons trouvé un pourcentage de 24.25% versus 6.79% pour les témoins ($P < 0.0001$). De plus, cette étude a permis de décrire pour la première fois chez un patient asthmatique la présence de l'allèle TG9. Par ailleurs, l'étude des haplotypes a été mené et a montré la prédominance de l'haplotype TG11T7 dans les deux groupes ce qui est en accord avec les données de la littérature.
Notre travail, portant sur l'étude du polymorphisme IVS8 TGmTn du gène *CFTR,* constitue l'un des premiers travaux effectués dans la population asthmatique tunisienne. Les résultats obtenus permettront de mieux comprendre les bases moléculaires de cette pathologie multifactorielle.

résumé Imen WAHABI.docx

P337 : Premier cas de syndrome d'Ellis Van Creveld secondaire à une délétion hétérozygote composite en 4p16.2 impliquant le gène EVC.

Auteurs :

Aline RECEVEUR (1), Tarik AIT MOUHOUB (2), Judith MELKI (2), Minh Tuan HUYNH (3), Sophie BRISSET (3), Virginie BENOIT (3), Dominique PINEAU (3), Loïc DREVILLON (3), Lucie TOSCA (3), Gérard TACHDJIAN (3)

1. Histologie, Embryologie et Cytogénétique, Hôpital Antoine Béclère, CLAMART, France
2. Service de Génétique, Centre Hospitalier Sud Francilien, Corbeil Essonnes, France
3. Histologie, Embryologie et Cytogénétique, Hôpitaux Universitaires Paris Sud, Site Antoine Béclère, CLAMART, France

Mots clefs : Ellis Van Creveld, ACPA, microdélétion, 4p16.2, thorax étroit, hexdactylie

Résumé :

Le syndrome d'Ellis Van Creveld (EVCs) (OMIM 225500) ou dysplasie chondro-ectodermique est une pathologie autosomique récessive très rare dont la fréquence est évaluée à 1/244.000 naissances, avec une prédominance dans la population Amish. Il est caractérisé par une tétrade clinique : chondrodysplasie, polydactylie post axiale, dysplasie ectodermale et malformation cardiaque.
Cette pathologie est principalement secondaire à des mutations impliquant les gènes *EVC* et *EVC2* situés en 4p16.2 et dont les sens de lecture sont opposés. Des mutations causales ont été décelées au niveau des 21 exons du gène *EVC*, ainsi qu'au niveau du gène *EVC2*. A notre connaissance, un seul cas familial de délétion homozygote a été rapporté, il était de grande taille (520Kb) et emportait les gènes *EVC, EVC2* et *STK32B*.
Nous rapportons le cas d'un nouveau-né décédé à 4 jours de vie, adressé pour des signes caractéristiques du EVCs, à savoir : un retard de croissance avec des membres courts, une dysmorphie faciale associant un philtrum effacé, un palais ogival, des oreilles bas implantées et un cou court ; un thorax étroit ; une dysplasie unguéale des doigts et des orteils et une hexadactylie post axiale. Il s'agissait du premier enfant du couple.
L'analyse chromosomique par puces à ADN (ACPA) réalisée à partir d'une puce Agilent 180K a décelé une délétion hétérozygote composite en 4p16.2 de 46Kb/70Kb, emportant 10 exons du gène *EVC* (5730952-5776842) (Hg19/GRCh37). Elle est héritée des parents dont l'étude familiale par ACPA a révélé une délétion à l'état hétérozygote chez chacun d'eux : de 46Kb chez le père et de 70Kb chez la mère. Ce couple non consanguin, sans antécédent familial particulier est d'origine tunisienne.
Il s'agit du premier cas décrit de syndrome d'Ellis Van Crevel, secondaire à une délétion hétérozygote composite dont la région commune est de petite taille (46 Kb), emportant les 10 premiers exons du gène *EVC*.
Ce résultat souligne l'intérêt de l'analyse en CGHarray avec une résolution non limitée pour le diagnostic de certaines pathologies. Il permet d'orienter le conseil génétique en proposant notamment pour le cas présent, un diagnostic pré-implantatoire (DPI).

P338 : Etude du polymorphisme du DNMT3A chez un échantillon de la population marocaine

Auteurs :

Hind DEHBI (1, 2), houssam HILAL ELIDRISSI (3), kaltoum AIT BOUJMIA (3), sellama nadifi (3)

1. Laboratoire de génétique médicale, CHU IBN ROCHD, casablanca, Maroc
2. Laboratoire de pathologies cellulaires et moléculaires, faculté de medecine et de pharmacie de casablanca-université Hassan II. casablanca, casablanca Maroc., Maroc
3. Laboratoire de pathologies cellulaires et moléculaires, faculté de medecine et de pharmacie de casablanca-université Hassan II. casablanca, casablanca, Maroc

Mots clefs : Méthylation, ADN méthyltransférase (DNMT), gène DNMT3A, polymorphisme 448 A>G, PCR-RFLP, population marocaine.

Résumé :

La méthylation de l'ADN correspond à l'ajout d'un groupement méthyl-CH3 sur le carbone 5 des résidus cytosines de l'ADN. Cette modification chimique est assurée par les enzymes appelées ADN méthyltransférase *DNMT*. On distingue trois familles, les *DNMT1*, *DNMT2* et *DNMT3*. La *DNMT1* est responsable de la méthylation de maintenance durant la division cellulaire. La *DNMT2* est catalytiquement inactive mais peut se lier à l'ADN. La *DNMT3* (*DNMT3a* et *DNMT3b*) est responsable de la méthylation de novo. Le polymorphisme 448 A>G (Rs 1550117), objet de ce travail, est localisé dans la partie promotrice du gène *DNMT3A*. Ce polymorphisme est caractérisé par la substitution d'une alanine en guanine en position 448. Pour la détection de cette mutation, nous avons réalisé une étude pro- et rétrospective allant de janvier 2012 à mai 2017 afin d'estimer les fréquences génotypiques et alléliques chez 46 sujets casablancais sains appariés en âge et sexe. Nous avons utilisé la technique PCR-RFLP.
Les résultats montrent que les fréquences génotypiques du polymorphisme 448 A>G, dans la population étudiée, sont de 54.35% pour GG, 34.78% pour GA et 10.87 % pour AA. Par ailleurs, les fréquences alléliques sont de 71.74% pour l'allèle sauvage (G) et de 28.26% pour l'allèle muté (A).

Etude du polymorphisme du DNMT3A chez un échantillon de la population marocaine.docx

P339 : Etude des trois marqueurs microsatellites (IVS3 poly A, IVS10 CA et IVS6aGATT): à propos de 60 malades mucoviscidosiques

Auteurs :

CHAIMA SAHLI (1), Sondess HADJ FREDJ (1), DABBOUBI Rym (2), Ouali Faida (2, 2), Taieb MESSAOUD (1)

1. laboratoire de biochimie et de biologie moléculaire , hôpital d'enfants Bechir Hamza Tunis , tunis, Tunisie
2. laboratoire de biochimie et de biologie moléculaire , Biochemistry Laboratory, Children's Hospital,, TUNIS, Tunisie

Mots clefs : Mucoviscidose, microsatellites, mutation F508del, haplotype, population Tunisienne

Résumé :

La mucoviscidose est la plus fréquente des maladies génétiques graves. Le gène *CFTR* responsable de cette pathologie comporte plusieurs motifs répétés dont le rôle reste encore non déterminé. L'objectif de ce travail est d'étudier la répartition des marqueurs microsatellites intragéniques (IVS3 poly A, IVS10 CA et IVS 6aGATT) dans une population Tunisienne mucoviscidosique ainsi que d'établir leurs associations avec la mutation la plus commune F508del. Notre étude a porté sur 60 enfants mucoviscidosiques et 70 sujets sains. L'étude des trois variants a été réalisée par l'analyse des fragments sur séquenceur automatique (ABI Prism 310). L'étude statistique a été menée d'une part par le logiciel SPSS (version 20.0) pour le calcul des fréquences génotypiques et alléliques et d'autre part par le logiciel Thesias pour la construction des haplotypes .L'analyse de la distribution génotypique des variants microsatellites montre une différence significative entre le groupe de contrôle et le groupe des patients ce qui montre l'association de ces marqueurs avec la mucoviscidose. En ce qui concerne la construction des haplotypes des microsatellites analysés en association avec la mutation F508del, nous avons noté la prédominance de l'haplotype F508del-19 polyA-16 CA-6 GATT (60.86%).
Notre travail, portant sur l'intérêt des haplotypes des microsatellites IVS3 poly A, IVS10 CA et IVS6aGATT du gène *CFTR* confirme l'utilité de ces marqueurs dans l'étude de l'origine du locus *CFTR*. Une meilleure complétude des bases de données sur les marqueurs génétiques sont des facteurs essentiels pour l'étude de la composante génétique de la mucoviscidose.

Assises 2018.docx

P340 : Diagnostic préimplantatoire d'exclusion pour maladie de Huntington, à propos d'un cas : possible ou impossible ?

Auteurs :

Claire KASTNER (1), Alice GOLDENBERG (2), Julia LAUER ZILLHARDT (1), Emmanuelle KIEFFER (1), Lucie GUYANT-MARECHAL (3), NICOLAS Gaël (3), Didier DEVYS (4), Philippe GOSSET (1), Céline MOUTOU (1, 5)

1. Unité de Diagnostic Préimplantatoire, Laboratoires de Diagnostic Génétique, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, STRASBOURG, France
2. Département de Génétique, Centre de Référence Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs, CHU de Rouen, ROUEN, France
3. Service de Neurophysiologie, CHU de Rouen, ROUEN, France
4. Service de Diagnostic Génétique, Hôpital Civil de Strasbourg, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, STRABOURG, France
5. , Université de Strasbourg, STRASBOURG, France

Mots clefs : Diagnostic préimplantatoire, maladie de Huntington, DPI d'exclusion

Résumé :

Le diagnostic préimplantatoire (DPI) d'exclusion, légitime en France depuis 2004, soit 10 ans après la loi de Bioéthique autorisant le DPI, permet à des personnes ayant un ascendant direct atteint de la maladie de Huntington (MH) d'éviter la transmission à sa descendance tout en ignorant son propre statut.
A Strasbourg, 255 demandes de DPI pour MH ont été recensées, constituant l'indication monogénique majoritaire dans notre centre. Plus de la moitié sont des demandes de DPI d'exclusion. Environ 150 couples ont pu bénéficier d'un DPI avec plus de 350 cycles de stimulations réalisés à ce jour.
Un jeune couple nous a sollicités pour un DPI d'exclusion pour MH en raison des nombreux antécédents de formes juvéniles particulièrement précoces et sévères dans la fratrie de Madame : un frère décédé à l'âge de 7 ans (allèle pathologique : 210 à 250 CAG), une sœur décédée à 9 ans (175 à 200 CAG) et une sœur âgée de 7 ans en fin de vie (120 à 150 CAG). Le père de Madame présente une expansion à 43 +/-1 CAG, avec une MH confirmée sur le plan clinique. La patiente a encore un frère et une sœur asymptomatiques.
Madame, âgée de 26 ans, n'a jamais réalisé le test moléculaire malgré plusieurs démarches pour un diagnostic présymptomatique. Elle ne connait donc pas son statut.
L'examen des résultats d'analyses moléculaires de la famille révèle que la mère de Madame est porteuse de 35+/-1 CAG, ce qui est considéré comme un « grand allèle normal », à la frontière avec les « allèles pathologiques à pénétrance réduite ». Ce même allèle intermédiaire est retrouvé chez deux de ses trois enfants ayant développé la maladie.
Le risque d'une transmission de MH par la mère de la proposante est envisagé même si les instabilités sont plus fréquemment décrites pour des transmissions paternelles. Il est donc possible que la patiente ait hérité de deux allèles pathologiques ou intermédiaires, même si la clinique est plutôt rassurante devant le contexte familial observé.
Dans ce cas précis, le diagnostic d'exclusion, basé sur le transfert d'embryons ayant hérité d'un allèle commun avec le grand-parent non porteur, n'est pas réalisable. La proposante a été encouragée à reprendre la démarche de diagnostic présymptomatique. Cette démarche reste la seule possibilité pour, soit rassurer la patiente si des allèles normaux étaient retrouvés, soit lui permettre l'accès au diagnostic prénatal ou au DPI si un allèle pathologique ou intermédiaire était hérité du père ou de la mère de Madame.

Abstract KASTNER AGMH 2018.docx

P341 : Microdélétion Xq24 incluant le gène UBE2A : première observation de découverte prénatale

Auteurs :

EMILIE CONSOLINO (1), JOHN BOUDJARANE (2), GUILLAUME GORINCOUR (3), HELENE HECKENROTH (4), SABINE SIGAUDY (1), CHANTAL MISSIRIAN (5)

1. DEPARTEMENT DE GENETIQUE/CPDPN, CHU TIMONE ENFANTS, MARSEILLE, France
2. LABORATOIRE DE GENETIQUE CHROMOSOMIQUE PRENATAL, CHU TIMONE ENFANTS, MARSEILLE, France
3. RADIOLOGIE PEDIATRIQUE/CPDPN, CHU TIMONE ENFANTS, MARSEILLE, France
4. GYNECOLOGIE OBSTETRIQUE/CPDPN, CHU TIMONE ENFANTS, MARSEILLE, France
5. LABORATOIRE DE GENETIQUE CHROMOSOMIQUE CONSTITUTIONNELLE, CHU TIMONE ENFANTS, MARSEILLE, France

Mots clefs : DPN, ACPA, microdeletion, Xq24, UBE2A

Résumé :

Microdélétion Xq24 incluant le gène *UBE2A* : première observation de découverte prénatale
E. Consolino, J. Boudjarane, G. Gorincour, H. Heckenroth, S. Sigaudy, C. Missirian.

L'haploinsuffisance du gène *UBE2A* est responsable de la déficience intellectuelle syndromique liée à l'X de type Nascimento (OMIM 300860). Elle se traduit chez le garçon par une déficience intellectuelle modérée à sévère associée à une épilepsie, une dysmorphie craniofaciale caractéristique, des anomalies des phanères, et des malformations congénitales.
Jusque-là, les variations impliquant le gène *UBE2A* sont de description postnatale, rapportées chez des garçons présentant à la naissance de multiples malformations.
Nous rapportons la première observation de microdélétion Xq24 incluant le gène *UBE2A* de découverte anténatale.
La patiente est adressée en consultation suite à la découverte à l'échographie du second trimestre d'une ambigüité sexuelle. Le contrôle échographique confirme les malformations génitales chez un fœtus de sexe masculin, auxquelles s'associent une hyperéchogénécité intestinale et une longueur fémorale au 3eme percentile. Ces signes d'appel échographiques conduisent à proposer une Analyse Chromosomique sur Puce à ADN sur liquide amniotique. Celle-ci identifie une variation du nombre de copies à type de perte au niveau de la région chromosomique Xq24 de 252kb contenant le gène *UBE2A* expliquant les malformations congénitales. Cette microdélétion interstitielle est héritée de la mère asymptomatique : l'étude du profil de l'inactivation du chromosome X montrant un biais total comme cela a pu être décrit dans la littérature.
Cette patiente est la 9ème d'une fratrie de 10 (6 filles et 4 garçons), sans antécédent de déficience intellectuelle syndromique connu. Dans le cadre du conseil génétique, l'enquête familiale est actuellement en cours chez 3 de ses sœurs vivant en France.

Microdélétion Xq24 incluant le gène UBE2A première observation de découverte prénatale.pdf

P342 : Profil épidémiologique de la Beta-thalassémie en Tunisie

Auteurs :

Rym OTHMANI (1), Rym DABBOUBI (1), Hajer SIALA (1), Sondess HADJ FREDJ (1), Faida OUALI (1), Taieb Messaoud (1)

1. Laboratoire de Biochimie et de Biologie moléculaire (LR00SP03), Hôpital d'Enfants Bechir Hamza de Tunis-Tunisie.Hôpital d'Enfants Bechir Hamza de Tunis, Tunis, Tunisie

Mots clefs : Béta-thalassémie- mutations- Tunisie

Résumé :

La β-thalassémie, anémie hémolytique chronique, est une maladie monogénique à transmission autosomique récessive, due à un déficit partiel ou total de synthèse de chaînes β-globine. Sur le plan moléculaire, cette pathologie est caractérisée par un spectre mutationnel hétérogène. On compte actuellement plus de 200 mutations responsables de Beta-thalassémie, dont 28 mutations identifiées en Tunisie. Dans le présent travail, nous nous sommes intéressés d'établir le profil épidémiologique des mutations beta thalassémiques en Tunisie.

Notre étude a porté sur 214 patients (50 cas de beta thalassémie majeure, 6 cas de drépano- thalassémique et 158 cas de thalassémique mineure) adressés à notre laboratoire de Biochimie et de Biologie moléculaire entre Janvier 2015 et Décembre 2016 pour électrophorèse de l'hémoglobine. La technique PCR-ARMS a été utilisée pour l'identification des mutations les plus fréquentes Cd39 C/T et IVS1-110 G/A. Pour le reste des mutations, nous avons eu recours à la technique de séquençage direct du gène beta-globine.

L'étude moléculaire nous a permis d'identifier 16 mutations différentes. Les deux défauts moléculaires les plus fréquents demeurent la mutation non sens Cd39 C/T et la mutation IVS1-110 G/A avec des pourcentages respectifs de 41.35% et 9.57% . Par ailleurs, 10 autres mutations rares ont également été identifiées avec un pourcentage ne dépassant pas 1%. Ces résultats concordent à ceux retrouvés dans des études antérieures élaborées chez la population Tunisienne.

Notre travail a permis l'enrichissement des données épidémiologiques de la Beta-thalassémie dans notre pays pour une prise en charge précoce des malades hémoglobinopathes.

P343 : Enjeux de l'accompagnement des personnes sans diagnostic et solutions apportées pour rompre leur isolement

Auteurs :

Anne-Sophie Lapointe (1), Gwendoline Giot (2), Magali Padre (3), Thomas Heuyer (4), Christine Vicard (4), Virginie Bros-Facer (5), Laurent Demougeot (6), Laurence Faivre (7)

1. Filière de santé AnDDI-Rares, Hôpital Necker-enfants malades, Paris, France
2. Filière de santé AnDDI-Rares, CHU Angers, Angers, France
3. Association Sans Diagnostic et Unique, Associatif, Marcillac, France
4. Maladies Rares Info Services, Plateforme Maladies Rares, Paris, France
5. EURORDIS-Rare Diseases Europe, Plateforme Maladies Rares, Paris, France
6. Filière de santé AnDDI-Rares, CHU Dijon, Dijon, France
7. Centre de Référence des Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs, Filière de Santé AnDDI-Rares , CHU Dijon, Dijon, France

Mots clefs : accompagnement, partenariat, sans diagnostic, information, forums, exome, genome

Résumé :

La filière AnDDI-Rares recense dans sa file active près de la moitié de patients sans diagnostic, soit environ 100 000 personnes (source : BNDMR). Ces personnes souffrent d'isolement, d'un manque de reconnaissance sociale et administrative de leur handicap et rencontrent des difficultés pour bénéficier de réseaux de soutien.
Afin de répondre à ce besoin d'accompagnement, un partenariat entre l'Association Sans Diagnostic et Unique, Maladies Rares Info Services et la filière AnDDI-Rares a été initié en 2016.
Cette collaboration a permis de mieux connaître la réalité des personnes sans diagnostic. Elle a aussi rendu plus visibles les ressources existantes grâce notamment à leur mise en réseau, à une vidéo, à des articles de presse, à des plaquettes d'information, à la création de forums dédiés sur le site de Maladies Rares Info Services, et la cartographie des laboratoires proposant l'accès au séquençage de l'exome. Pour mieux informer les familles et les malades, une première journée nationale pour les personnes sans diagnostic et unique a été organisée en septembre 2017.
Les personnes en errance de diagnostique ne sont plus seules et voient leurs problématiques portées à une échelle internationale avec la mobilisation du réseau SWAN (Syndrome Without A Name) Europe et l'élaboration de recommandations pour les « sans diagnostic ». Ce partenariat s'inscrit dans les actions préconisées par le plan France Médecine Génomique 2025 en soutenant l'accès au diagnostic génétique.

P344 : Une trisomie peut en cacher une autre

Auteurs :

Céline Dupont (1), Jonathan Levy (1), Jonathan Rosenblatt (2), Aurélie Marc (1), Myriam Rachid (3), Sandra Bhattacharjee (1), Cécile Le Long (3), Adeline Thaly (1), Séverine Drunat (4), Anne-Laure Fauret (5), Suonavy Khung-Savatovsky (6), 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 Cytogénétique-Département de Génétique , Hôpital Robert Debré (AP-HP), Paris, France, Paris, France
4. UF de Génétique Moléculaire-Département de Génétique, Hôpital Robert Debré (AP-HP), Paris, France
5. UF de Génétique moléculaire -département de Génétique, Hôpital Robert Debré (AP-HP), Paris, France, Paris, France
6. UF de Foetopathologie- département de Génétique, Hôpital Robert Debré (AP-HP), Paris, France, paris, France

Mots clefs : trisomie, discordance, trophoblaste

Résumé :

Le diagnostic prénatal chromosomique repose sur l'utilisation de méthodes de génétique moléculaire avec analyse quantitative de l'ADN. De nombreuses études ont montré l'intérêt de ces techniques en diagnostic prénatal en dépit de leur interprétation parfois difficile notamment sur biopsie de trophoblaste.
Nous rapportons le cas d'une patiente adressée au CPDPN pour hyperclarté nucale et hernie diaphragmatique fœtale. Une biopsie de trophoblaste a été réalisée. Le diagnostic rapide a été réalisé sur ADN natif par la technique des Prenatal BoBs. Le résultat a montré l'absence de trisomie 13,18 et 21 et des syndromes microdélétionnels testés, mais identifiait un décalage d'une des billes contrôles située sur le chromosome 14. Une puce type CGH-array a mis en évidence une trisomie 14 concordante avec le décalage observé sur les BoBS. Cependant, de façon inattendue, le caryotype fœtal réalisé après culture a montré l'existence d'une trisomie 21 libre et quasi homogène.
Afin de comprendre le mécanisme de ces résultats discordants, plusieurs examens ont été effectués :
- Une ré-analyse de l'ACPA et une étude par microsatellites réalisées sur ADN natif a confirmé la présence de la trisomie 21, en mosaïque très faible associée à la trisomie 14. Une FISH sur apposition de villosités choriales a montré la présence de 95% de cellules 47,XX,+14 et 5% de cellules 47,XX,+21.
- A l'inverse, une FISH métaphasique réalisée sur les deux sources de culture cellulaire a montré la présence majoritaire d'une population 47,XX,+21 (70 et 90% respectivement sur les deux sources) associée à une population 47,XX,+14 minoritaire.
- Une puce SNP réalisée sur ADN natif et une sur ADN issu de la culture confirme la trisomie 21 majoritaire dans la culture alors qu'elle est minoritaire dans l'ADN natif au dépend de la trisomie 14. Ce type de puce montre de façon plus claire les faibles mosaïques.

Le mécanisme le plus probable ayant donné lieu à ce type de double aneuploïdie en mosaïque discordante sur le direct et la culture est celui d'une double erreur mitotique survenue au moment de la différenciation des feuillets embryonnaires. En effet, l'analyse chromosomique sur prélèvement natif est essentiellement réalisée sur syncytio et cytotrophoblaste (reflet placentaire) alors que la culture cellulaire sélectionne les cellules de l'axe mésenchymateux issues du bouton embryonnaire (reflet embryonnaire). Le placenta avait donc probablement une trisomie 14 et le fœtus une trisomie 21. Une IMG a été réalisée au terme de 18 SA. Une analyse de la mosaïque sur différents tissus est en cours.
Ce cas illustre les difficultés d'interprétation de l'analyse chromosomique rapide sur biopsie de trophoblaste. Il montre également l'intérêt et l'apport des méthodes cytogénétiques morphologiques comme la FISH associées à ces techniques moléculaires purement quantitatives. Par ailleurs, notre observation illustre l'intérêt de l'ACPA de type SNP en diagnostic prénatal.

P345 : Impact des variants -429 T/C et -374 T/ du gène AGER sur la sévérité de l'expression clinique de la mucoviscidose

Auteurs :

Sondess HADJ FREDJ (1), Insaf Ben MOUSSA (2), Fadoua BEN RACHED (2), Chaima SAHLI (1), Rym DABBOUBI (2), Hajer ALOULOU (3), Samia HAMOUDA (4), Hajer SIALA (1), Khedija Boussetta (4), Taieb MESSAOUD (5)

1. 1- Laboratoire de Biochimie et de Biologie moléculaire, Hôpital d'Enfants Bechir Hamza de Tunis-Tunisie, Tunis, Tunisie
2. Laboratoire de Biochimie et de Biologie moléculaire , Hôpital d'Enfants Bechir Hamza de Tunis, Tunis, Tunisie
3. Service de Pédiatrie, Hôpital Hedi Chaker de Sfax, Tunis, Tunisie
4. Service de Pédiatrie, Hôpital d'Enfants Bechir Hamza de Tunis, Tunis, Tunisie
5. 1- Laboratoire de Biochimie et de Biologie moléculaire, Hôpital d'Enfants Bechir Hamza de Tunis-Tunisie, Tinis, Tunisie

Mots clefs : Mucoviscidose- gène modificateur- Gène AGER- expression clinique

Résumé :

La mucoviscidose est une maladie héréditaire de transmission autosomique récessive. Elle est caractérisée par une extrême hétérogénéité génotypique et clinique mettant en jeu des facteurs environnementaux et génétiques en dehors du locus *CFTR*. Dans ce présent travail, nous nous sommes intéressés à l'étude de l'implication du gène *AGER* (advanced glycosylation end product-specific receptor) dans la variabilité et la sévérité de l'expression clinique de la mucoviscidose.

Notre étude à porté sur 66 malades mucoviscidosiques et 80 témoins. Le diagnostic biochimique a été mené par le test de la sueur par iontophorèse à la pilocarpine. Une étude moléculaire du gène *AGER* a été réalisée par la technique PCR-RFLP pour l'analyse des deux polymorphismes -429 T/C (rs1800625) et -374 T/A (rs1800624) situés au niveau de la région promotrice. L'analyse statistique a été effectuée à l'aide de la version 20.0 du logiciel informatique SPSS.

L'analyse statistique a montré une différence significative dans la distribution génotypique et allélique des deux polymorphismes analysés entre les malades et les témoins. L'étude de corrélations a montré une association entre les polymorphismes -429T/C et -374T/A et d'une part l'âge du diagnostic et d'autre part l'infection pulmonaire par Pseudomonas aeruginosa. La colonisation bronchique par ce germe, a une valeur pronostique péjorative, elle est associée à un déclin plus prononcé de la fonction respiratoire et marque un stade évolutif de l'atteinte pulmonaire.

Les résultats obtenus suggèrent l'implication des polymorphismes -429T/C et -374T/A du gène *AGER* dans la sévérité de l'expression clinique de la mucoviscidose. L'identification des gènes modificateurs doit permettre de repérer les patients à risque de développer une forme sévère de la pathologie et de moduler en conséquence leur prise en charge thérapeutique afin de ralentir la progression de la maladie.

résumé Sondess Hadj Fredj assises 2018.docx

P346 : Quelle place pour le Diagnostic Prénatal Non Invasif (DPNI) de l'Achondroplasie ?

Auteurs :

Roxana Borghese (1), Séverine Bacrot (1), Nora Brahimi (1), Valérie Cormier Daire (1), Genevieve Baujat (1), Sophie Rondeau (1), Caroline Michot (1), Joana Bengoa (1), Arnold Munnich (1), Jean-Pierre Bernard (2), Cergika Veluppillai (2), Julien Stirnemann (2), Jean-Paul Bonnefont (1), Julie Steffann (1)

1. Service de Génétique Médicale et Institut Imagine, Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France
2. Service de Gynécologie Obstétrique , Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France

Mots clefs : Achondroplasie, Diagnostic Prénatal Non Invasif

Résumé :

L'achondroplasie (ACH) est une des maladies osseuses constitutionnelles les plus fréquentes, avec une prévalence de 1/25000. C'est une pathologie autosomique dominante et la majorité des cas survient de novo, par mutation c.138G>A (p.Gly380Arg) du gène *FGFR3* dans >98% des cas. Les signes échographiques d'ACH sont le plus souvent tardifs et peu spécifiques. Ils nécessitent une confirmation diagnostique par des techniques d'imagerie (scanner) et/ou génétique (amniocentèse). Ces techniques non dénuées de risque iatrogènes sont aujourd'hui challengées par le développement de procédures de diagnostic prénatal non-invasif (DPNI) basées sur l'analyse de l'ADN fœtal circulant.
Le but de ce travail était de préciser la place et l'utilité du DPNI de l'achondroplasie en analysant 35 cas d'ACH consécutifs pris en charge dans de service de Génétique de l'hôpital Necker depuis 2008. Parallèlement nous avons développé une technique simple pour le DPNI de l'ACH basée sur une PCR fluorescente semi quantitative -digestion par enzyme de restriction, permettant de détecter jusqu'à 0.8% d'ADN muté.
Le terme moyen au diagnostic de notre cohorte était de 30+4 SA. L'échographie du 2ème trimestre était normale dans 80% des cas. L'échographie du 3ème trimestre montrait des signes d'appel caractéristiques : fémur court (100%), PC>90e percentile (>80%), et anomalies multiples évocatrices (ensellure nasale marquée, front proéminent, élargissement des diaphyses, hydramnios) confirmant le caractère souvent tardif des signes échographiques d'ACH. La suspicion échographique a été confirmée par un scanner du squelette fœtal (53% des cas) et/ou étude génétique sur liquide amniotique (43%). Par DPNI nous avons confirmé la présence de la mutation chez un fœtus à 34 SA devant des signes d'appel échographiques, et nous avons éliminé ce diagnostic chez deux fœtus, dans le cadre d'une grossesse gémellaire, dont le père était ACH. Si le DPNI de l'ACH est faisable, préciser sa place est difficile. Il permet un diagnostic plus précoce et non invasif pour les couples ayant eu un premier enfant atteint d'achondroplasie (risque de mosaïque germinale), ou lorsque le père est atteint d'ACH mais pas la mère (50 % de risque de transmission). Devant des signes d'appel échographique, il parait indiqué si le couple est conservateur de la grossesse en cas d'ACH, pour éviter les risques liés à l'irradiation et/ou au prélèvement invasif.

VF résumé dpni 0210.docx

P347 : Diagnostic anténatal de reins fœtaux hyperéchogènes par séquençage haut débit d'un panel de gènes

Auteurs :

Claire Goursaud (1), Florence Roucher-Boulez (1, 2), Delphine Mallet-Motak (1), Linda Pons (3), Audrey Putoux (3, 2), Dominique Boggio (3), Jocelyne Attia (3), Salima El Chehadeh (4), Elise Schaefer (4), Romain Favre (5), Francannet Christine (6), Philippe Khau Van Kien (7), Justine Bacchetta (8, 9), Pierre Cochat (8, 9), Véronique Tardy-Guidollet (1, 2), Laurence Michel-Calemard (1, 9)

1. Pathologies Endocriniennes, Rénales, Musculaires et Mucoviscidose, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
2. Faculté de Médecine, Université Lyon I, Lyon, France
3. Génétique Médicale, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
4. Génétique Médicale, Hôpital de Hautepierre, Strasbourg, France
5. Gynécologie Obstétrique, Centre Médico-Chirurgical et Obstétrical, Strasbourg, France
6. Génétique Médicale, Hôpital d'Estaing, Clermont-Ferrand, France
7. Génétique Médicale, CHU Caremeau, Nîmes, France
8. Néphrologie Pédiatrique, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
9. Centre de Référence des Maladies Rénales Rares Néphrogones, Hôpital Femme Mère Enfant, Lyon, France

Mots clefs : DPN, reins fœtaux hyperéchogènes, séquençage haut débit, MPS

Résumé :

Parmi les anomalies de l'appareil urinaire qui compliquent environ 1% des grossesses, l'hyperéchogénicité rénale fœtale reste une entité rare caractérisée par une forte morbi-mortalité périnatale et dont le diagnostic étiologique est complexe. Quatre syndromes sont principalement impliqués : la polykystose rénale autosomique récessive (ARPKD), la polykystose rénale autosomique dominante (ADPKD), le syndrome kystes rénaux-diabète (RCAD) lié au gène *HNF1B* et le syndrome de Bardet Biedl (BBS).
Le développement du séquençage haut débit dans notre laboratoire depuis 2014 permet la réalisation de diagnostic moléculaire en anténatal des cas adressés sur signes d'appel échographiques. Auparavant nous proposions en urgence pour ces cas la recherche d'anomalies du gène *HNF1B* (MLPA pour les grands réarrangements puis séquençage Sanger des 9 exons) et le séquençage Sanger des 9 exons du gène *PKHD1* dans lesquels sont retrouvées les mutations les plus fréquentes responsables d'ARPKD.
Notre premier panel Ampliseq™ ciblant 25 gènes impliqués dans les néphropathies permettait l'étude de 16 patients une fois par mois. Depuis mars 2017, l'élaboration d'un nouveau panel par capture SeqcapEZ (Roche) incluant 59 gènes impliqués en pathologie rénale autorise l'analyse avec une meilleure couverture des gènes ciblés sur l'indication « reins hyperéchogènes anténataux »: *PKHD1*, *HNF1B*, *PKD1*, *PKD2*, *BBS1*, *BBS2*, *BBS4*, *BBS5*, *MKKS*, *BBS7*, *TTC8*, *BBS10*, *BBS12, NPHP1*, *INVS* et *NPHP3*. L'étude de ces gènes sur Nextseq500 (Illumina) est désormais réalisée dans notre laboratoire chez huit patients tous les quinze jours.
Au total, 21 cas nous ont été adressés sur l'indication de reins hyperéchogènes anténataux :
5 fœtus ont été étudiés uniquement par MLPA et séquençage Sanger, parmi lesquels seuls deux ont reçu un diagnostic (un ARPKD et un RCAD).
Les 16 autres ont été passés en séquençage haut débit. Le diagnostic moléculaire a pu être établi pour 11 fœtus : 4 cas d'ARPKD, 2 cas de RCAD et 5 cas de BBS. Depuis la mise en place du panel Roche sur Illumina, sur quatre cas de reins hyperéchogènes anténataux adressés, trois diagnostics moléculaires ont été posés dans un délai inférieur à un mois : un cas d'ARPKD pour lequel une interruption médicale de grossesse (IMG) a été pratiquée avant le rendu du résultat et deux cas de BBS qui ont permis de proposer aux couples une IMG. L'évolution échographique du cas sans diagnostic a finalement été rassurante.
Une fréquence plus importante de l'analyse avec une meilleure couverture nous a ainsi permis de gagner en efficience. L'analyse de prélèvements fœtaux sur un panel de gènes ciblés sur l'indication « reins hyperéchogènes anténataux » rend alors possible un diagnostic moléculaire rapide, pouvant être essentiel à la prise en charge par les CPDPN des familles concernées.

P348 : De la génétique à l'accompagnement médico-social : mieux se connaitre pour mieux coopérer

Auteurs :

Gwendoline GIOT (1), Gwendoline GIOT (1), Anne-Sophie LAPOINTE (2), Martine DOCO-FENZY (3), Patrick EDERY (4), Didier LACOMBE (5), Sylvie MANOUVRIER (6), Sylvie ODENT (7), Nicole PHILIP (8), Alain VERLOES (9), Laurent DEMOUGEOT (10), Laurence FAIVRE (11), Dominique BONNEAU (12)

1. Filière de santé AnDDI-Rares, CHU Angers, Angers, France
2. Filière de santé AnDDI-Rares, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France
3. Centre de référence des anomalies du développement et syndromes malformatifs de l'Est, CHU Reims, Reims, France
4. Centre de référence des anomalies du développement et syndromes malformatifs du Sud-Est, HCL, Lyon, France
5. Centre de référence des anomalies du développement et syndromes malformatifs du Sud-Ouest Occitanie Réunion, CHU Bordeaux, Bordeaux, France
6. Centre de référence des anomalies du développement et syndromes malformatifs de l'inter région Nord-Ouest, CHRU Lille, Lille, France
7. Centre de référence des anomalies du développement et syndromes malformatifs de l'Ouest, CHU Rennes, Rennes, France
8. Centre de référence des anomalies du développement et syndromes malformatifs du Sud-Est, AP-HM, Marseille, France
9. Centre de référence des anomalies du développement et syndromes malformatif d'Île-de-France, CHU Robert-Debré, Paris, France
10. Filière de santé AnDDI-Rares, CHU Dijon, Dijon, France
11. Centre de référence des anomalies du développement et syndromes malformatifs de l'Est, CHU Dijon, Dijon, France
12. Centre de référence des anomalies du développement et syndromes malformatifs de l'Ouest, CHU Angers, Angers, France

Mots clefs : Parcours, filière, coopération, coordination, médico-social, partenariat, accompagnement

Résumé :

Depuis leur création en 2014, les filières de santé maladies rares ont un rôle majeur à jouer dans l'amélioration du parcours de vie des personnes malades. Du fait de l'hétérogénéité des handicaps générés par les anomalies rares du développement, la filière AnDDI-Rares est particulièrement concernée par cette composante médico-sociale.
La coopération pluridisciplinaire est un enjeu majeur pour une prise en charge fluide et cordonnée. L'intervention conjointe de professionnels médicaux, paramédicaux, médico-sociaux, sociaux et associatifs est bien souvent essentielle mais implique que chacun d'eux connaisse les ressources existantes et identifie clairement les interlocuteurs qu'il peut solliciter.
Ainsi, dès 2015, la filière AnDDI-Rares a mis en place des rencontres locales sur le thème de l'accompagnement médico-social des personnes atteintes de maladies rares et leurs proches afin de renforcer la coopération de ces acteurs.
Entre 2015 et 2017, dans le cadre d'un tour de France, huit réunions locales ont été organisées. Elles ont associé : des représentants pluridisciplinaires des centres experts maladies rares (médecins-généticiens, neuropsychologues, psychologues, travailleurs sociaux), des associations de personnes malades, des représentants institutionnels (MDPH, ARS), des représentants d'Équipes Relais Handicaps Rares, des Centres Nationaux de Ressources Handicaps Rares, d'établissements médico-sociaux et/ou du secteur éducatif. Pour l'heure, une centaine d'acteurs y ont déjà participé.
Ces rencontres ont permis d'intensifier le maillage partenarial inter-régional ou local, de mieux appréhender les ressources du territoire et les missions et compétences de chaque acteur, de définir les modalités d'articulation entre chaque intervenant et de favoriser la coordination des ressources autour de situations concrètes.
Au vu de ces constats, la filière AnDDI-Rares souhaite poursuivre la mise en œuvre de ces rencontres pluridisciplinaires qui s'intègrent directement dans les objectifs de l'axe 1 du Plan National Maladies Rares 3 : *Un parcours de santé efficace et lisible*.
Un focus particulier autour de l'accompagnement des personnes sans diagnostic pourrait émerger.
En 2017, la filière AnDDI-Rares s'est également inscrite dans le cadre de rencontres inter-filières régionales et pluridisciplinaires pour poursuivre cette dynamique.

Abstract - Poster assises génétique 2018 GG.doc

P349 : Analyse de la répartition spatiale des patients porteurs d'un cancer de la thyroïde en Loire-Atlantique-Vendée : une approche spatiale pour la recherche de variations génétiques rares.

Auteurs :

Matilde Karakachoff (1), Solenne Delacour-Billon (2), Delphine Drui (3), Bernadette Lucas-Pouliquen (4), Matthieu Pichelin (1), Bertrand Cariou (1, 5), Christian Dina (1), Florence Molinié (2)

1. , l'institut du thorax, INSERM, CNRS, UNIV Nantes, CHU Nantes, Nantes, France
2. , Registre des tumeurs de Loire-Atlantique-Vendée, Nantes, FRANCE , Nantes, France
3. , Clinique d'Endocrinologie, l'institut du Thorax, CHU de Nantes, Nantes, FRANCE, Nantes, France
4. , Service d'Endocrinologie, CHD La Roche sur Yon, La Roche Sur Yon, FRANCE, Nantes, France
5. , Clinique d'Endocrinologie, l'institut du Thorax, CHU de Nantes, Nantes, France

Mots clefs : spatial cancer cluster, SaTScan, facteurs génétiques, thyroïde, registre de cancers

Résumé :

La recherche de zones à forte concentration d'une pathologie permet d'émettre des hypothèses sur les facteurs de risque environnementaux ou génétiques. En génétique, l'hypothèse de l'importance de variants rares à effet pathogène fort, dont la fréquence serait plus élevée seulement dans certaines populations, a émergé ces dernières années. Le recrutement des malades autour des zones à forte concentration de la maladie pourrait aider dans la recherche de ces variants rares lors des études d'association génétique. L'objectif principal de ce travail était d'étudier la distribution spatiale des patients porteurs d'un cancer différencié de la thyroïde en Loire-Atlantique et en Vendée afin d'identifier des agrégats spatiaux.
3 325 CDT diagnostiqués entre 1998 et 2012 enregistrés par le registre des tumeurs de Loire-Atlantique-Vendée ont été inclus. L'analyse spatiale a été effectuée selon la commune de résidence des individus, à travers la méthode de Kulldorff. La taille et l'histologie des tumeurs ont été prise en compte afin de s'affranchir de l'influence des pratiques médicales.
L'analyse spatiale a montré la présence de deux zones à forte concentration en Vendée. Ces résultats étaient similaires lorsque l'analyse était restreinte aux carcinomes papillaires de moins de 10 mm. Concernant les carcinomes papillaires de plus de 10 mm, les analyses spatiales n'ont pas permis d'isoler significativement d'agrégat.
Deux hypothèses différentes ont été avancées pour expliquer ces résultats. D'une part, un véritable phénomène de sur-diagnostic lié aux pratiques médico-chirurgicales. D'autre part, la présence de facteurs de risque environnementaux et/ou génétiques localisés difficiles à mettre en évidence par manque de puissance.

abstractASSISES.docx

P350 : Influence de la génétique mitochondriale dans le glaucome à angle ouvert : importance de la stratification par genre

Auteurs :

Céline Bris (1, 2), Stéphanie Leruez (3), David Goudenège (1, 2), Valérie Desquiret - Dumas (1, 2), Dóra Nagy (4), Alexandre Marill (3), Patrizia Bonneau (1, 2), Thomas Bresson (3), Dominique Bonneau (5, 2), Philippe Gohier (3), Dan Milea (3, 6), Guy Lenaers (2), Pascal Reynier (1, 2), Vincent Procaccio (1, 2)

1. Département de biochimie et génétique, CHU d'Angers, Angers, France
2. MITOVASC – Equipe MITOLAB UMR CNRS 6214 - INSERM 1083, Université d'Angers, Angers, France
3. Servie d'ophtalmologie, CHU d'Angers, Angers, France
4. Department of Medical Genetics Pediatrics, University of Szeged , Szeged , Hongrie
5. Servide de génétique clinique et cytogénétique, CHU d'Angers, Angers, France
6. Neuro-Ophthalmology Department, Singapore National Eye Centre, Singapour, Singapour

Mots clefs : Glaucome primaire à angle ouvert, Haplogroupes mitochondriaux

Résumé :

Introduction
Le glaucome primaire à angle ouvert (GPAO) est une maladie dégénérative en lien avec le vieillissement, caractérisée par la perte progressive des cellules ganglionnaires de la rétine (RGCs) à l'origine d'une diminution du champ visuel. Des dysfonctions mitochondriales ont été identifiées chez les patients présentant un GPAO, telles qu'un déficit du complexe I, une surproduction de radicaux libres oxygénés (ROS) ou des défauts dans la dynamique mitochondriale, suggérant une influence mitochondriale dans sa physiopathologie. L'objectif de notre étude était d'évaluer l'influence de la génétique mitochondriale via la détermination des haplogroupes mitochondriaux sur la survenue et la sévérité du GPAO dans une population européenne.
Patients et méthodes
Nous avons séquencé par NGS la totalité de l'ADNmt pour268 patients avec un GPAO de sévérité variable (89 minimes, 59 modérés et 120 sévères), et 258 contrôles. Les haplogroupes ont été déterminés à l'aide du logiciel Phy-Mer. Nous avons comparé la distribution des haplogroupes entre les GPAO et les contrôles, et au sein du groupe GPAO en fonction de la sévérité, avec et sans stratification par genre.
Résultats et discussion
En l'absence de stratification par genre, aucune association entre les haplogroupes, la survenue ou la sévérité du GPAO n'a été identifiée. En revanche, chez les femmes, on observe une sous-représentation de l'haplogroupe T (p= 0.04 ; OR : 0,35 ; IC 95% : 0.13-0.99) dans le groupe GPAO (4.2%) comparé au groupe contrôle (11%). Le rôle protecteur de l'haplogroupe T a déjà été suggéré pour d'autres pathologies neurodégénératives et résulterait d'une plus faible production de ROS. Par ailleurs, nous avons observé que l'haplogroupe H était associé à une moindre sévérité chez les femmes (p=0.0035). Celui-ci a déjà été identifié comme facteur protecteur dans la dégénérescence maculaire liée à l'âge (DMLA), une pathologie également caractérisée par la perte de RGCs. Des études fonctionnelles *in vitro* ont montré que cet haplogroupe était associé à une réponse inflammatoire plus modérée. Or la réponse neuro-inflammatoire semble participer à la perte de RGCs dans le GPAO et la DMLA. Ainsi, ces résultats suggèrent que l'haplogroupe H est à l'origine d'une moindre sévérité du GPAO par une réponse inflammatoire locale limitée.
Conclusion
De précédentes études ont montré que l'influence de la génétique mitochondriale dans les maladies neurodégénératives pouvait être conditionnée par le genre, comme dans la maladie d'Alzheimer. Nous confirmons pour la première fois l'influence de la génétique mitochondriale uniquement chez les femmes dans le GPAO. Ces résultats confirment l'influence du dimorphisme sexuel sur les fonctions mitochondriales et soulignent l'importance de la stratification par genre dans les études d'association pour une meilleure identification de l'implication des mitochondries dans la physiopathologie des maladies neurodégénératives.

P351 : Rôle des polymorphismes génétiques des gènes impliqués dans la modulation de la sensation douloureuse chez des patients tunisiens atteints de cancer

Auteurs :

Imen CHATTI (1), Jean Baptiste WOILLARD (2), Isabelle Creveaux (3), Sarah Langlais (3), Leila BenFatma (4), Jihene FEKI (5), Ali SAAD (6), Frédéric LIBERT (7), Moez GRIBAA (1)

1. Laboratoire de Cytogénétique, de Génétique Moléculaire et de Biologie de la Reproduction Humaines, CHU Farhat Hached Sousse, Sousse, Tunisie
2. INSERM UMR 850, Univ Limoges, Limoges, France
3. Laboratoire de Biochimie médicale, Faculté de Medecine, CLERMONT FERRAND, France
4. Département d'oncologie médicale, CHU Farhat Hached, Sousse, Tunisie
5. Service d'oncologie médicale et service de chirurgie générale, CHU Habib Bourguiba , Sfax, Tunisie
6. Laboratoire de Cytogénétique, de Génétique Moléculaire et de Biologie de la Reproduction Humaines, CHU Farhat Hached, Sousse, Tunisie
7. Laboratoire de Pharmacologie et Toxicologie, CHU G.Montpied, CLERMONT FERRAND, France

Mots clefs : Polymorphisme, douleur, SNP, COMT, OPRM1, OPRK1

Résumé :

La douleur est un problème clinique qui nécessite une prise en charge adéquate. Les opioïdes occupent une place primordiale dans le traitement de la douleur et la morphine reste la molécule de choix pour les douleurs cancéreuses. Cependant, la modulation de la douleur par les opioïdes est très variable d'un individu à un autre suggérant des causes génétiques sous-jacentes.
L'objectif de ce travail est d'étudier l'association entre l'efficacité du traitement par des morphiniques et des polymorphismes (SNP) au niveau des gènes des récepteurs opioïdes mu (*OPRM1*), Kappa (*OPRK1*) et de l'enzyme (*COMT*) chez des patients tunisiens souffrants de douleurs liées au cancer.
Nous avons effectué le génotypage de 129 patients traités par différentes doses de morphine pour 7 polymorphismes : une INDEL (rs35566036) et 6 SNP dont trois au niveau de l'*OPRM1* (rs17174629, rs1799972 et rs1799971), deux au niveau de l'*OPRK1* (rs1051659 et rs1051660) et un au niveau du *COMT* (rs4680). Les associations entre la dose (en continu), l'augmentation de la dose (oui/non) et les SNPs ou haplotypes ont été étudiées par le logiciel R.
Aucune association significative n'a été observée entre les polymorphismes dépistés et la dose de morphine nécessaire pour soulager la douleur, ce qui peut être expliqué par l'importante hétérogénéité de notre population tunisienne. Mais, notre étude a révélée l'association du rs1051660 au niveau de l'exon 2 de l'OPRK1 à la non tolérance de la douleur qui accompagne les métastases osseuses (p=0,02783).

P352 : Facteurs psychologiques impactant la communication familiale et la réalisation des tests dans les familles BRCA1/2 et HNPCC : L'étude PSI-Com

Auteurs :

Nathalie ALEGRE (1), Yves-Jean BIGNON (2), Jean CHIESA (3), Solange CARTON (4), Aude MICHEL (5), Virginie GALIBERT (6), Ornellia MOPHAWÉ (6), Isabelle COUPIER (6), Carole CORSINI (6), Laura MATHIEU (7), Lydie BERNHARD (3), Pascal PUJOL (6)

1. Unité d'Oncogénétique Clinique, Hôpital Arnaud de Villeneuve, CHU de Montpellier, Montpellier, France, MONTPELLIER, France
2. Laboratoire d'Oncologie Moléculaire, CLCC Jean Perrin, Clermont-Ferrand, France, Clermont-Ferrand, France
3. Génétique médicale et cytogénétique, CHU de Nîmes, Nîmes, France, Nîmes, France
4. Département de Psychologie, Section de Psychologie Clinique, Université Montpellier III Paul Valéry, Montpellier, France, Montpellier, France
5. Département de Psychologie Clinique et Psychopathologie, Université Montpellier III Paul Valéry, Montpellier, France, Montpellier, France
6. Unité d'Oncogénétique Clinique, Hôpital Arnaud de Villeneuve, CHU de Montpellier, Montpellier, France, Montpellier, France
7. Laboratoire d'Oncologie Moléculaire, CLCC Jean Perrin, Clermont-Ferrand, France, Montpellier, France

Mots clefs : Communication familiale, facteurs psychologiques, BRCA1/2, HNPCC

Résumé :

Contexte. La découverte d'une prédisposition génétique au cancer a des implications médicales pour le cas-index et pour ses apparentés, qui peuvent bénéficier de tests génétiques et de stratégies de prévention ou de dépistages recommandées. Le cas-index endosse le plus souvent ce rôle de « messager » dont plusieurs publications ont souligné la complexité (EL Cheung, 2010). Différentes études montrent également que l'information familiale et la réalisation des tests ne se fait pas de manière optimale (P Pujol et al, 2013).
Objectifs et méthodes. PSI-Com est une étude multicentrique prospective dont l'objectif était d'identifier chez les cas-index les facteurs psychologiques, sociodémographiques et médicaux susceptibles d'impacter l'information familiale et la réalisation de tests génétiques ciblés. Un objectif secondaire était de comparer les populations *BRCA1/2* et *HNPCC* au regard de ces différents facteurs. Des entretiens directifs ont été réalisés pour renseigner les données sociodémographiques et médicales. Des questionnaires psychologiques aux qualités psychométriques validées ont été proposés dans des conditions standardisées pour mesurer l'anxiété « trait » (STAI), les traits dépressifs (BDI), l'alexithymie (TAS-20), le niveau de conscience émotionnelle (LEAS), l'optimisme dispositionnel (LOT-R), les stratégies de coping (WCC), la perception du risque de cancer et de transmission héréditaire, le vécu de la tâche de messager (échelles EVA) et les relations familiales (FRI).
Résultats. 103 cas-index porteurs d'une mutation dans les gènes *BRCA1/2* (n=81) ou *HNPCC* (n=22) ont été inclus. Parmi les apparentés qui pouvaient bénéficier d'un test ciblé, 68% en avaient été informés. L'information était inversement corrélée à l'éloignement générationnel ($P < 0.0001$). 37% des apparentés informés avaient réalisé un test ciblé. Après analyse multivariée, les facteurs impactant positivement l'information familiale étaient l'ancienneté du diagnostic génétique du cas index ($P < 0.01$) et la cohésion au sein de la famille (FRI, P=0.01). Les facteurs positivement associés à la réalisation de tests ciblés étaient la présence de traits dépressifs (P=0.02) et un coping centré sur l'émotion chez le cas-index (P=0.09) ainsi que la lourdeur des antécédents familiaux (P=0.10). Les facteurs négativement associés étaient une haute perception du risque de cancer chez le cas index (P=0.03) et un vécu difficile de sa tâche de messager (P=0.07). Aucune différence entre les populations *BRCA1/2* et *HNPCC* n'a été retrouvée sauf concernant le score « difficulté à décrire ses émotions » plus élevé chez les patients *HNPCC* (TAS-20, P=0.03).
Conclusion. Cette étude permet de mieux comprendre les déterminants cliniques et les processus psychologiques et relationnels qui impactent la qualité de l'information et la réalisation des tests. Une information et un accompagnement personnalisés du cas-index pourraient améliorer l'accès aux tests dans les familles *BRCA1/2* ou *HNPCC*.

Abstract PSI-Com_Assises de Génétique 2018_Nathalie Alegre.docx

P353 : Rôle de la Lp(a) dans le risque de récidive familiale d'un AVC périnatal : lorsque le risque génétique individuel diffère du risque collectif

Auteurs :

Mélodie AUBART (1, 2), Mathilde VARRET (1), Manoelle Kossorotoff (2), Randy Bittar (3), Stéphane Loyau (1), Isabelle Desguerre (2), Catherine BOILEAU (1)

1. Laboratory for Vascular Translational Science, INSERM U1148, CHU X. Bichat, Paris, France
2. Service de Neuropédiatrie, Hôpital Necker-Enfants malades, Paris, France
3. LAboratoire des Lipides, Hôpital Pitié Salpétrière, Paris, France

Mots clefs : Lipoprotéine(a), SCARB1, AVC périnatal

Résumé :

INTRODUCTION
Les AVC ischémiques périnataux sont une cause majeure de lésion cérébrale néonatale et de handicap. Il est habituellement rapporté qu'il n'existe pas de risque de récurrence intra-familiale. Certaines études ont décrit que les enfants avec AVC ischémique périnatal et leur mère présentaient un dosage élevé de lipoproteine (a) (Lp(a)).
METHODES OU OBSERVATIONS
Dans une famille, 2 des 3 enfants du couple ont été diagnostiqués avec un AVC périnatal. Le premier présentait une un AVC ischémique veineux présumé périnatal; le second un AVC ischémique sylvien néonatal. Aucun facteur de risque thrombotique classique n'a été retrouvé. Les 3 enfants et leurs 2 grand-parents maternels présentaient des taux élevés de Lp(a) sanguin (0,43 à 0,94g/L), leur mère un taux très élevé (1,3g/L) alors que le père avait un dosage normal (0,11g/L). Les antécédents médicaux de l'ensemble de la famille étaient nuls.
Des variants rares ayant été rapportés récemment dans le gène SCARB1 chez des individus présentant un taux élevé de HDL-cholestérol et de Lp(a), les 13 exons de *SCARB1* ont été séquencés chez les 7 membres de la famille et un variant rare a été retrouvé (c.470T>C, p.Leu157Pro). Ce variant était prédit pathogène par l'ensemble des algorithmes de prédiction. Les 3 enfants, leur mère et leur grand-mère maternelle étaient porteurs à l'état hétérozygote.
Un second facteur décrit comme influençant le taux de Lp(a) sanguin est le nombre de répétition d'un domaine de la Lp(a), le kringgle IV-2 (KIV-2), dans un rapport inversement proportionnel. Une nouvelle fois, les 3 enfants, leur mère et les 2 grand-parents maternels étaient porteurs d'un nombre de KIV-2 moyen <10 soit d'une seconde prédisposition génétique à un taux élevé de Lp(a). L'ensemble des autres éléments du profil lipidique de ces patients était normal.
Enfin, l'étude des paramètres de coagulation et fibrinolyse retrouvaient des vitesses de fibrinolyse basses chez la mère et les 2 grand-parents, alors que les enfants avaient des résultats dans les normes.
DISCUSSION
La récurrence d'un AVC périnatal dans une fratrie est un évènement extrêmement rare. L'existence dans cette famille d'un facteur de risque déjà évoqué comme l'élévation de la Lp(a) nous a conduit à rechercher et identifier 2 prédispositions génétiques d'élévation de la Lp(a) chez la mère et ses enfants.
CONCLUSION
Ce diagnostic pose la question du risque de récurrence (notamment par prédisposition génétique) à l'échelle individuelle d'une pathologie rapportée comme sans risque de récurrence à l'échelle d'une population.

Abstract Assises genet 2018.docx

P354 : Etude moléculaire de l'atransferrinemie congénitale : 1er cas en Tunisie

Auteurs :

rym dabboubi (1), Chaïma Abdelhafidh Sahli (2), Sondes Hadj Frej (3), Amina Bibi (4), Salem Yahyaoui (5), Taieb Messaoud (6)

1. biochimie, hôpital d'enfant de Tunis, tunis, Tunisie
2. laboratoire de biochimie et de biologie moléculaire, Hopital d'enfants Bechir Hamza de Tunis, TUNIS, Tunisie
3. laboratoire de biochimie et de biologie moléculaire, Hopital d'enfants Bechir Hamza de Tunis, Tunis, Tunisie
4. laboratoire de biologie clinique, Institut National de Nutrition et de Technologie Alimentaire, tunis, Tunisie
5. Service de Pediatrie A, Hopital d'enfants tunis, Tunis, Tunisie
6. Laboratoire de biochimie et de biologie moléculaire, Hopital d'enfantsBechir Hamza de Tunis, Tunis, Tunisie

Mots clefs : Atransferrinemie, Anémie hypochrome microcytaire, Mutation, Séquençage

Résumé :

L'atransferrinémie est une maladie très rare due à un défaut de synthèse de la transferrine (TF). Elle est caractérisée par une anémie microcytaire associée à une surcharge en fer tissulaire. A nos jours, 14 patients appartenant à 12 familles ont été rapportés. Cependant, l'étude moléculaire des atransferrinémies congénitales a été menée uniquement dans 6 cas. Nous décrivons dans le présent travail, un cas d'atransferrinémie congénitale rapporté pour la première fois chez un patient Tunisien.
Notre étude a porté sur une patiente âgée de 2 ans originaire du sud de la Tunisie (Gafsa) ayant un taux de transferrine sérique indétectable. L'analyse moléculaire a été réalisée par le séquençage direct des 17 exons et des jonctions introns exons du gène *TF.*
L'étude génotypique nous a permis d'identifier trois variations de séquence du gène *TF* décrites pour la première fois dans le monde : La mutation délétionnelle 1624-64 (-T) localisée au niveau de l'intron 13, le polymorphisme p.R609R localisé au niveau de l'exon 15 et la variation intronique 691-61(G>C) localisée au niveau de l'intron 6.
Nous avons pu également identifier la mutation au niveau de l'exon 12 A1342G (rs 2692696) décrite dans des travaux antérieurs.
Par ailleurs, le phénotype sévère observé chez notre patient soufrant d'une anémie hypochrome microcytaire sévère accompagnée d'une concentration de fer sérique basse et d'une surcharge en fer massive, nous incite à prouver par étude fonctionnelle que les mutations retrouvées chez notre patiente étaient en effet la cause des anomalies cliniques.
Les résultats de l'étude moléculaire, sont venus enrichir le spectre mutationnel du gène *TF* où peu d'études se sont intéressées à l'investiguer.
En effet, notre étude vient d'être ajouté aux études antérieures qui ont montré que l'atransferrinemie est une maladie hétérogène étant donné que les mutations identifiées se situent sur des différents exons avec une distribution aléatoire

P355 : Découverte fortuite d'une large duplication exonique de signification inconnue du gène de la dystyrophine en anténatal : illustration d'une situation complexe de conseil génétique

Auteurs :

Cécile ZORDAN (1), Caroline ESPIL-TARIS (2), Marie-Laure MARTIN NEGRIER (3), Eva TOUSSAINT (1), Frédéric VILLEGA (2), Sophie NAUDION (1), Rabah BEN YAOU (4), Brigitte SIMON-BOUY (5), Nathalie DEBURGRAVE (6), France LETURCQ (6), Cyril GOIZET (1, 7)

1. Service de Génétique Médicale, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France
2. Service de Neuropédiatrie, Centre de Référence des Maladies Neuromusculaires AOC, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France
3. Service de Pathologie, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France
4. Institut de Myologie, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France
5. Service de Biologie Médicale, CH de Versailles, Le Chesnay, France
6. Service de Génétique et Biologie Moléculaires, Hôpital Cochin, CHU Paris Centre, Paris, France
7. Laboratoire MRGM, INSERM U1211, Université de Bordeaux, Bordeaux, France

Mots clefs : dystrophinopathie, conseil génétique, VSI, analyse haut débit

Résumé :

Les dystrophies musculaires de Duchenne (DMD) et Becker (DMB) sont des pathologies musculaires dues à des mutations du gène *DMD,* codant pour la dystrophine, localisé en Xp21.2 et comprenant 79 exons. Soixante à 70% des DMD et DMB résultent d'une délétion de un ou plusieurs exons du gène, 5% à 10% d'une duplication exoniques, le restant étant des mutations ponctuelles. Lors des premières années de la maladie, les garçons atteints de DMD ont des CPK supérieures à 10 fois la normale et une dystrophine indétectable sur la biopsie musculaire en western blot et immunohistochimie alors que ceux atteints de DMB ont des CPK supérieures à 5 fois la normale et une quantité de dystrophine réduite dans le muscle.
Nous rapportons la découverte anténatale fortuite par CGH-array d'une duplication de 271kb en Xp21 incluant une partie du gène *DMD* chez un fœtus de sexe masculin, dans un contexte de pied varus équin découvert à l'échographie du 3ème trimestre. La patiente, informée à 36 SA d'une probable dystrophinopathie chez son fœtus, a souhaité poursuivre la grossesse. Ce résultat a été confirmé en postnatal à 3 mois de vie chez l'enfant et chez sa mère, conductrice, par séquençage nouvelle génération et QF-PCR avec la mise en évidence d'une duplication des exons 63 à 79 du gène *DMD* dont la position du point de cassure à l'extrémité 3' (au-delà l'exon 79 du gène) n'a pu être déterminée. Cette duplication n'a jamais été décrite mais les duplications situées dans la même région sont presque exclusivement responsables de DMD.
En raison d'une nouvelle grossesse, la patiente a été vue en consultation de conseil génétique deux ans plus tard. Il s'agissait d'un fœtus masculin. Son fils porteur de la duplication du gène *DMD* était alors âgé de 2 ans et 4 mois. Son examen clinique était normal sans argument clinique en faveur d'une maladie musculaire. Le dosage des CPK s'est aussi avéré normal. Dans le contexte de la grossesse, la localisation de la duplication et la gravité des pathologies suspectées, il a été convenu de poursuivre les investigations chez l'enfant avec une biopsie musculaire qui n'a montré aucune anomalie en quantité et en taille de la dystrophine ou des autres protéines membranaires, tant en western-blot qu'en immunohistochimie. Ces résultats laissent supposer que cette duplication, qui va au-delà de l'extrémité 3' du gène, n'affecte pas sa transcription. Ils ont permis d'exclure un diagnostic de DMD/DMB chez l'enfant, et d'être rassurant pour la grossesse en cours pour laquelle il n'y a pas eu d'examen complémentaire proposé.
Avec l'utilisation généralisée de techniques pangénomiques haut-débit (CGH-array, exome…), cette observation illustre la prudence dont nous devons faire preuve, particulièrement en anténatal, face à la découverte fortuite de variant génétique de signification inconnue.

abstract DMD final.docx

P356 : Recherche de variants récessifs rares impliqués dans la thrombose veineuse.

Auteurs :

Mourad Sahbatou (1), Marie-Claude Babron (2), Lucas Plouvier (3), Julie Guibon (3), Jean-François Deleuze (4, 5), Pierre-Emmanuel Morange (6), David-Alexandre Tregouët (7), Anne-Louise Leutenegger (2)

1. Génetique des populations et épidémiologie , Fondation Jean Dausset CEPH, 75010 Paris, France
2. UMR 946, Variabilité Génétique et Maladies Humaines, INSERM, 75010 Paris, France
3. UMR 946, Variabilité Génétique et Maladies Humaines, INSERM, Paris, France
4. Centre National de Recherche en Génomique Humaine (CNRGH), Institut de Biologie François Jacob, CEA, Evry, France
5. Fondation Jean Dausset - CEPH, Fondation Jean Dausset - CEPH, Paris, France
6. UMR 1062, INSERM, Marseille, France
7. UMR 1166, ICAN, INSERM, Paris, France

Mots clefs : Thrombose veineuse, Consanguinité, HBD-GWAS, Homozygosity mapping, puce Exome

Résumé :

La thrombose veineuse (TV) correspond à la formation anormale d'un caillot sanguin dans une veine. Elle survient en général au niveau des veines profondes des membres inférieurs et bloque partiellement ou totalement la circulation sanguine. Il arrive que le caillot se déplace jusqu'aux poumons et conduise à une embolie pulmonaire. Il s'agit de la seconde pathologie cardiovasculaire la plus fréquente en Europe et la troisième en termes de mortalité. C'est une maladie multifactorielle déterminée par plusieurs facteurs génétiques et environnementaux. L'étude de la composante génétique des maladies humaines peut-être facilitée en se focalisant sur des individus consanguins dans les grandes populations. Nous avons développé des méthodes pour exploiter la présence de consanguinité non documentée à partir de données génome entier (HBD-GWAS, Génin et al, 2012) ainsi qu'une suite logicielle FSuite les implémentant (Gazal et al, 2014). Notre stratégie est d'identifier les patients qui sont consanguins, puis de rechercher les régions du génome homozygotes par descendance (HBD) partagées par ceux-ci. Ces régions HBD pourraient abriter des variants rares causaux à effet récessif. C'est une approche similaire à une analyse de liaison par cartographie des régions homozygotes (Homozygosity mapping) qui s'affranchit de la connaissance de la généalogie. C'est aussi une approche haplotypique qui permet d'accéder aux variants rares à partir de puce de génotypage.
Dans ce projet, nous recherchons l'existence de variants récessifs rares potentiellement impliqués dans la survenue de la TV par l'approche HBD-GWAS. Les patients sont issus de l'étude MARseille THrombosis Association (MARTHA) comprenant plus de 2700 cas de TV : une phase 1 où 1589 cas ont été génotypés sur la puce Illumina Human 610-Quad/660W-Quad, puis une phase 2 où l'ensemble des patients a été génotypé sur une puce Illumina Exome (Germain et al, 2015 ; Suchon et al. 2017). Une première analyse sur les données de la phase 1 restreinte aux individus consanguins d'origine non européenne suggère l'existence de variants à effet récessif sur le chromosome 10. Dans la phase 2 avec la même stratégie nous avons cherché à confirmer, voire à amplifier, ce résultat tout en comparant ces 2 puces de nature très différente.
Nous avons ainsi montré qu'avec les 2 puces nous retrouvons des coefficients de consanguinité très proches pour les individus communs aux 2 phases de l'étude mais que la puce Exome ne permet pas de détecter les faibles niveaux de consanguinité. Nous confirmons l'association suggérée sur le chromosome 10 sans toutefois augmenter sa puissance statistique malgré un panel élargi en phase 2. Ce résultat peut être expliqué par la nature de la puce Exome et par les caractéristiques des individus supplémentaires, surtout d'origine européenne.

Assises2018-VTE_Sahbatou.docx

P357 : Nouvelles Estimations de la pénétrance dans les Neuropathies Amyloïdes Familiales à Transthyrétine (NAF-TTR)

Auteurs :

Farida GORRAM (1, 2), Flora ALARCON (3), Violaine PLANTE-BORDENEUVE (1, 2)

1. Département de Neurologie , Hôpital Universitaire Henri Mondor, APHP, Créteil, France
2. Inserm U955, équipe 10, Institut Mondor de Recherche Biomédicale (IMRB), Créteil, France
3. MAP5 UMR CNRS 8145, Université Paris Descartes, Paris, France

Mots clefs : Amylose à Transthyrétine, Pénétrance, Covariables, Données familiales, Estimation

Résumé :

Dans les maladies génétiques à âge de début variable, une estimation précise de la fonction de pénétrance est cruciale pour la prise en charge des porteurs de mutations pathogènes, asymptomatiques. Les NAF-TTR sont des maladies génétiques rares, à transmission autosomique dominante causées par une mutation du gène de la TTR, dont l'expression est majoritairement hépatique. La transplantation hépatique était le premier traitement permettant de stabiliser ou ralentir les symptômes. Récemment, de nouvelles thérapeutiques ont été développées comme les stabilisateurs de TTR et deux thérapies géniques (ARN antisens et ARN interférent) ciblant les hépatocytes pour supprimer l'ARNm de TTR. Pour ces dernières les résultats d'essais cliniques de phase 3 sont très encourageants. Pour une plus grande efficacité, l'administration des nouveaux traitements doit intervenir dès les premiers symptômes. L'estimation de la pénétrance est donc une étape essentielle pour favoriser un diagnostic très précoce de cette affection.
Nous avons développé une méthode non paramétrique permettant l'estimation de la fonction de pénétrance à partir de données familiales et testé cette approche dans un large échantillon de NAF-TTR. Les données généalogiques de 135 familles de NAF-TTR ont été recensées, dont 71 familles d'origine française et 64 d'origine portugaise. Dans les familles françaises il y a une hétérogénéité des mutations pathogènes tandis qu'un seul variant, le plus fréquent Val30Met, est présent dans l'échantillon portugais. L'influence de facteurs tels que l'origine géographique, le type de variant ou encore le sexe du parent transmetteur sur la fonction de pénétrance sont autant d'informations permettant une meilleure connaissance de l'expression de la maladie. La méthode développée permet la prise en compte de ces covariables, soit de manière paramétrique, par un modèle de Cox, soit de manière non paramétrique, par stratification.
Les résultats montrent une différence significative de pénétrance entre les familles NAF-TTR Val30Met Françaises et Portugaises. Dans les familles portugaises le risque de développer la maladie est significativement plus élevé que dans les familles françaises ($p < 0.01$). Dans les familles françaises, il existe une différence significative selon le variant de la TTR ($p < 0.05$). Selon le sexe du parent transmetteur une différence de pénétrance est mise en évidence dans l'échantillon des familles portugaises avec un risque plus élevé lorsque la mutation est transmise par la mère ($p < 10^{-6}$). En revanche, cette différence n'est pas observée dans les familles françaises.
Cette étude a montré des différences de pénétrance dans les 2 populations de NAF-TTR analysées. Cette nouvelle méthode aidera à connaître le plus précisément possible les risques de développer la maladie dans les différentes populations de NAF-TTR pour optimiser la prise en charge.

P358 : Aspects périnataux du syndrome de Prader-Willi

Auteurs :

Arnaud Manet (1), Mélanie FRADIN (1), Chloé Quélin (1), Laurent Pasquier (1), celine rozel (2), gwenaelle le bouar (3), Sylvie NIVOT-ADAMAIAK (4), Sylvie ODENT (1, 5)

1. Service de Génétique Médicale, Centre de Référence Anomalies du Développement, CHU de Rennes, Rennes, France
2. Service de Radiologie , CHU de Rennes, rennes, France
3. Service de Gynécologie Obstétrique, CHU de Rennes, rennes, France
4. Service de Pédiatrie, CHU de Rennes, Rennes, France
5. , Faculté de Médecine , Rennes, France

Mots clefs : Prader-Willi, diagnostic anténatal

Résumé :

Introduction: Le syndrome de Prader Willi (PWS) est une maladie soumise à empreinte caractérisée en phase néonatale par une hypotonie, des difficultés alimentaires, un retard de croissance. Le diagnostic anténatal de ce syndrome est rare. L'objectif de l'étude était de déterminer des signes cliniques et échographiques pouvant faire suspecter ce syndrome en anténatal.
Méthode: Nous avons étudié l'ensemble des PWS suivi par les services de génétique de Rennes et Saint Brieuc entre 2005 et 2015. Nous avons comparé les données cliniques et échographiques anténatales avec la population générale. Les comparaisons aux valeurs de la population générale étaient réalisées avec le test des rangs signés de Wilcoxon pour les variables quantitatives et le test binomial exact pour les variables qualitatives.
Résultats: Nous avons recensés 19 patients sur la période d'étude. Nous avons observé que les patients PWS avait un plus petit poids pour l'âge gestationnel avec une croissance dysharmonieuse, plus de baisse des mouvements actifs foetaux, d'hydramnios et de présentation non céphalique que dans la population générale. Parmi ces signes, 50 % des patients PWS ont présenté deux signes d'alerte anténataux , 25% moins de deux signes et 25% plus de 2 signes anténataux.
Conclusion: Notre étude a permis de confirmer l'existence d'un phénotype anténatal du syndrome de Prader et Willi. La faible association et la faible spécificité de l'ensemble des signes rend impossible la possibilité de diagnostiquer l'ensemble des PWS en anténatal.

P359 : Signature transcriptomique de la réponse au traitement chez des patients avec un premier épisode psychotique

Auteurs :

Réjane Troudet (1, 2), Wafa Bel Haj Ali (1, 2), Caroline Barau (3), Anne Boland-Auge (4), Jean-François Deleuze (4), Marion Leboyer (5, 2), Stéphane Jamain (6, 2), consortium OPTiMiSE (7)

1. Psychiatrie Translationnelle, Inserm U 955, Faculté de médecine, Université Paris Est Créteil, Créteil, France
2. , Fondation FondaMental, Créteil, France
3. Plateforme de Ressources Biologiques, AP-HP, Hôpital H. Mondor – A. Chenevier, Créteil, France
4. Centre National de Génotypage, Commissariat à l'Energie Atomique, Institut Génomique, Evry, France
5. Psychiatrie Translationnelle, Inserm U 955, AP HP, Hôpital H. Mondor – A. Chenevier, Pôle de Psychiatrie , Faculté de médecine, Université Paris Est Créteil, Créteil, France
6. Psychiatrie Translationnelle, Inserm U 955, Faculté de médecine, Université Paris Est Créteil, Créteil, France
7. , Icahn School of Medicine, Mount Sinai, New-York, Etats-Unis

Mots clefs : schizophrénie, transcriptome, biomarqueurs, réponse au traitement

Résumé :

L'un des problèmes majeurs dans le traitement de la schizophrénie repose sur le fait qu'il n'existe aucun critère objectif pour prédire qui répondra au traitement ni quand changer le traitement en cas d'absence d'amélioration des symptômes. L'identification de biomarqueurs de la réponse au traitement permettrait aux cliniciens d'utiliser ces tests pour choisir le meilleur traitement antipsychotique à prescrire. Dans le cadre d'un consortium européen (OPTiMiSE), notre équipe a réalisé une analyse de transcriptome sur 186 sujets avec un premier épisode psychotique tous traités 4 semaines par amisulpride. Des prélèvements sanguins ont été collectés avant et après traitement et l'ADN et l'ARN ont été extraits. Les profils de transcription ont été analysés par séquençage haut-débit (RNA-Seq) et comparés pour chaque individu avant et après traitement ainsi qu'en fonction de la réponse au traitement. Dans le but de caractériser une signature biologique de la réponse au traitement, les gènes dont l'expression variait avec le traitement ont été identifiés en utilisant le package DESeq2 et analysés en fonction des voies biologiques et de l'amélioration des symptômes. L'ensemble des patients a également été génotypé pour plus de 900 000 polymorphismes pour nous permettre d'identifier si des variations génétiques étaient responsables des variations d'expression génique observées. A partir des 10 683 gènes exprimés dans le sang, nous avons identifié des gènes différentiellement exprimés après 4 semaines de traitement par amisulpride. Pour certains de ces gènes, les modifications d'expression étaient significativement corrélées à l'amélioration des symptômes cliniques. Nous avons également identifié un sous-groupe de gènes dont le niveau d'expression était significativement différent avant traitement entre les patients dont les symptômes diminueront après 4 semaines comparé à ceux pour lesquels aucune amélioration ne sera constatée, suggérant que ces gènes pourraient être utilisés pour prédire la réponse au traitement. Par ailleurs, nous avons identifié des variations génétiques associées aux modifications d'expression ainsi qu'à la réponse au traitement. Nous avons ainsi pu montrer que l'amisulpride affectait l'expression des gènes dans le sang périphérique et que certaines modifications d'expression semblaient corréler à l'amélioration des symptômes. La réplication de ces résultats sur une cohorte indépendante est cependant nécessaire pour confirmer les mécanismes moléculaires associés à la réponse au traitement et devrait permettre l'identification d'une signature biologique de l'amisulpride qui aidera à définir quels patients sont en mesure de répondre au traitement.

P360 : Les entretiens psychologiques téléphoniques au sein d'une consultation d'oncogénétique : expérience, état des lieux et perspectives

Auteurs :

Roxanne Poirson (1), Hélène Delhomelle (1), Chrystelle Colas (2, 1)

1. Consultation d'oncogénétique, Hôpital Saint Antoine, APHP, Paris, France
2. Département de génétique, Hôpital Pitié Salpêtrière, APHP, Paris, France

Mots clefs : oncogénétique, test pré-symptomatique, suivi psychologique, suivi téléphonique

Résumé :

La consultation d'oncogénétique de l'hôpital Saint Antoine à Paris propose un entretien psychologique systématique aux patients effectuant un test génétique pré-symptomatique. Un entretien psychologique est également proposé aux patients atteints qui sont vus en consultation en tant que cas index. Ces entretiens peuvent déboucher sur des suivis psychothérapeutiques lorsque le patient en éprouve le besoin. Depuis septembre 2015, nous proposons à ces patients la possibilité d'un suivi psychothérapeutique téléphonique.
Après 24 mois, nous avons souhaité nous interroger sur cette pratique. De septembre 2015 à aout 2017, 567entretiens psychologiques ont été réalisés pour 354 patients dont 60 entretiens par téléphone (11%) qui correspondent au suivi de 9 patients. Si l'on ne s'intéresse qu'aux consultations de suivi ces entretiens correspondent à 45% des suivis (9 patients sur 20). Sur les 9 patients, 6 ont eu une première consultation inaugurale physique avant la mise en place du suivi téléphonique et ont bénéficié d'entretiens physique et téléphonique de façon alternée. Cependant pour des raisons d'éloignement géographique et/ou de santé cette rencontre physique n'a pas été possible pour 3 patients. La durée de suivi pour ces patients a été plus courte que pour les autres (1 mois). En moyenne, les suivis durent plus longtemps lorsque le téléphone est impliqué (11 mois contre 7 en suivi physique).
Cette pratique reste minoritaire par rapport aux entretiens « physiques » mais certains patients s'en saisissent pour mettre en place un suivi. En effet, la démarche de suivi régulier peut-être entravée par deux principaux facteurs qui sont soulignés par les patients : la distance géographique et la double pénibilité du déplacement physique et psychique au sein d'un hôpital. Ainsi, la consultation téléphonique apparaît comme un véritable support à la mise en place parfois délicate d'un suivi psychothérapeutique. Elle est même (pour 8 patients sur 9) la condition *sine qua non* pour la mise-en-place ou la poursuite du suivi. Une rencontre inaugurale apparaît cependant souhaitable afin qu'une relation transférentielle, bien que naissante, puisse s'instaurer, mais aussi pour aborder pleinement la possibilité d'une alliance thérapeutique entre le patient et la psychologue. Il serait intéressant de mener une étude clinique sur le long terme afin de comprendre les enjeux du virtuel et de la distance dans le transfert entre le patient et son psychothérapeute. Les bénéfices psychiques sont encore à démontrer afin de comprendre s'il s'agit d'un simple accompagnement psychologique ou d'un véritable travail de psychothérapie comme celui qui est mené, parfois difficilement, au sein d'un cadre hospitalier porteur de biais et d'obstacles à la relation transférentielle idéalisée.

P361 : Génotype/phénotype corrélations dans la polykystose autosomale dominante de l'adulte .

Auteurs :

Marie-Pierre Audrezet (1), Claude FEREC (1, 2)

1. service de génétique moléculaire, CHU Hopital Morvan Brest , Brest, France
2. UMR1078, UBO, Brest, France

Mots clefs : ADPKD,genotype/phénotype.

Résumé :

La polykystose autosomale dominante de l'adulte (ADPKD) est la plus fréquente des maladies génétiques de transmission dominante de l'adulte .Deux gènes principaux ont été identifiés à ce jour , PKD1 rend compte de 70 à 80% des formes classiques de la maladie, et 15 à 20% des polykystoses sont associés à PKD2 .Un troisième gène GANAB (Porath et al AJHG,2016) est rare et associé à une phénotype particulier de polykystose hépato /rénale associée à des reins de taille normale .
Nous avons réalisé au fil des années une étude complète de la région codante de PKD1, PKD2 et de GANAB tout d'abord par la technique de Sanger d et plus récemment par une technique de séquençage de nouvelle génération (NGS) sur Illumina après capture des différentes régions codantes.
Cette analyse moléculaire a été réalisée sur plus de 4500 patients ,2500 d'entre eux provenant d'une cohorte du grand ouest la cohorte Genkyst impliquant 18 centres de néphrologie et par ailleurs 2000 patients provenant des différents services de néphrologie du territoire . Nous avons déterminé le spectre mutationnel de cette cohorte en identifiant une mutation dans l'un de ces trois gènes dans un peu plus de 90% des formes classiques de la maladie et décrit plus de 50 mutations nouvelles (http://pkdb.mayo.edu).
Ceci nous a permis de réaliser une étude fine de corrélations génotype/phénotype ,l'entrée en insuffisance rénale terminale (IRT)étant un marqueur précis de l'évolution clinique de la maladie. Nous avons montré que le type de mutation ,ie la présence d'une mutation troncante dans PKD1 était associée à une forme plus sévère de polykystose avec une entrée en IRT à 55 ans très significativement différente des formes associées à une mutation non troncante ou l'entrée en IRT est en moyenne de 67 ans ($P < 0.0001$).Nous avons confirmé que les formes de polykystose associées à PKD2 sont à 90% des mutations perte de fonction associée à un phénotype moins sévère avec une entrée en IRT à 79 ans (Audrezet et al ,Hum Mut ,2012;Cornec-Le Gall et al, JASN ,2013).Nous avons pu proposer d'intégrer des données cliniques (HTA avant 35 ans, manifestations urologiques avant 35 ans) aux données génétiques pour définir un score(le proPKD score) plus fin permettant de classer les patients en fonction de leur risque d'évolution vers l'IRT(Cornec-Le Gall et al, JASN,2015).
Une collaboration nationale portant sur les formes de diagnostic dépistées in utéro nous a permis de montrer qu'il existait un excès d'allèles hypomorphes du gène PKD1 chez ces fœtus (Audrezet et al, JASN ,2015). l'étude moléculaire de ces patients a permis de montrer deux effets fondateurs l'un impliquant une délétion de PKD2 impliquant des patients dans la région de Vannes et l'autre situé dans l'ile de la réunion .
La connaissance des données génotypiques est importante dans la polykystose non seulement pour identifier le gène responsable mais pour classer les malades qui vont pouvoir bénéficier des thérapies spécifiques .

P362 : Les données secondaires issues du séquençage haut débit d'exome : un challenge dans l'implémentation de la médecine génomique.

Auteurs :

Julian DELANNE (1, 2), Sophie NAMBOT (1, 3), Aline CHASSAGNE (4, 5), Francoise HOUDAYER (6), Olivier PUTOIS (4, 7), Elodie CRETIN (4, 5), Christine PEYRON (4, 8), Elodie GAUTHIER (1), Julien THEVENON (4, 3), Angeline BRUEL (3), Jérémy SKRZYPSKI (9), François GHIRINGHELLI (9), Romain BOIDOT (9), Frédéric TRAN-MAU-THEM (3, 10), Christophe PHILIPPE (3, 10), Antonio VITOBELLO (3, 10), Laurent DEMOUGEOT (11), Anne Sophie LAPOINTE (11), Marc BARDOU (12), Emilie TISSERAND (3), Maxime LUU (12), Christine BINQUET (12), Catherine LEJEUNE (12), Lorraine JOLY (1), Christine JUIF (1), Yanis DUFFOURD (3, 4), Damien SANLAVILLE (6), Pascal PUJOL (13), David GENEVIEVE (13), Christel THAUVIN-ROBINET (1, 3), Laurence FAIVRE (1, 3)

1. Centre de génétique - Centre de référence des maladies rares, anomalies du développement et syndromes malformatifs, CHU Dijon, Dijon, France
2. Université de Bourgogne Franche Comté UMR 1231, INSERM, UMR1231 Equipe GAD, Génétqiue des anomalies du développement, Dijon, France
3. Gentique des anomalies du développement, INSERM, UMR1231 Equipe GAD, Génétqiue des anomalies du développement, Dijon, France
4. FHU Translad, CHU de Bourgogne Franche-Comté, Dijon, France
5. CIC-IT Inserm 808, CHU de Besançon et Université de Bourgogne-Franche Comté, Besançon, France
6. CLAD Sud-Est, Hôpital Femmes Mères Enfants, Hôpitaux Civils de Lyon, Lyon, France
7. EA 3071 SuLiSoM, Université de Strasbourg, Strasbourg, France
8. EES-LEDI, Université de Bourgogne, Dijon, France
9. GIMI (Genomic and Immunotherapy Medical Institute), Centre Georges François Leclerc CHU Dijon, Dijon, France
10. Laboratoire de génétique moléculaire et de Cytogénétique, Plateau Technique de Biologie, CHU Dijon, Dijon, France
11. Filière AnDDI-Rares, Centre Hospitalier Universitaire et Université de Bourgogne-Franche Comté, Dijon, France
12. INSERM, CIC1432, module épidémiologie clinique, CHU Dijon, Dijon, France
13. Société Française de Médecine Prédictive et Personnalisée (SFMPP), CHU de Montpellier, Montpellier, France

Mots clefs : Données secondaires, séquençage haut débit, Exome, Génome, Enquêtes d'opinions, Revue de la littérature

Résumé :

L'Institut National Human Genome Research a défini la médecine génomique comme « une discipline médicale émergente qui consiste à utiliser l'information génomique d'un individu dans le cadre de ses soins cliniques ». Grâce au séquençage haut débit, au-delà d'identifier la cause de la pathologie ayant justifiée la prescription du test, d'autres informations ayant un intérêt potentiel pour les patients et leurs familles peuvent être exploitées, nommées données secondaires. Elles peuvent être rendues aux patients, s'ils donnent leur consentement écrit, particulièrement lorsqu'elles permettent une amélioration de la prise en charge curative ou préventive du patient. Le rendu de ces données secondaires continue à causer de nombreux débats parmi les professionnels de santé, les patients et les éthiciens. Le but de cette étude est de faire une synthèse exhaustive de toutes les études sur la perception des DS dans des journaux scientifiques référencés, afin de déterminer les attentes principales des patients et des professionnels de santé vis-à-vis des perspectives offertes par leur exploitation, ainsi que les principales problématiques posées par la gestion de ces données.
Une revue de la littérature a été conduite sur tous les articles de Pubmed rapportant des études centrées sur les données secondaires ayant des méthodologies qualitatives, quantitatives ou mixtes et interrogeant des professionnels de santé, des patients ou plus largement la société. Leurs méthodologies ont été analysées de manière rigoureuse en insistant sur particulièrement sur la différence entre données secondaires actionnables et non-actionnables.
Entre 2010 et 2016, 32 articles ont été compilés, parmi eux 27 étaient Nord-Américains, 3 Australiens et 2 Européens. Un total de 11 604 personnes ont été interrogé dans ces études (1096 patients, 3003 professionnels de santé et 7505 personnes représentant la société). Lorsque données secondaires actionnables et non-actionnables ont été analysées séparément (76% des articles), 93% des répondants estimaient que le rendu des données secondaires actionnables devait être proposé aux patients (96% lorsque l'on interroge les patients, 86% les professionnels et 97% la société), contre 71% si elles étaient non-actionnables (85% lorsque l'on interroge les patients, 61% les professionnels et 74% la société). La différence entre une indication de test chez les mineurs et les majeurs parait indispensable, bien que la différence ne soit pas significative parmi les enquêtes réalisées. En effet, 92% des personnes interrogées pensent qu'il faut rendre des DS actionnables aux parents de mineurs bénéficiant d'un séquençage haut débit, et 69% pour les DS non-actionnables.
Cette revue de la littérature montre la nécessité de réaliser des travaux de recherche en France pour déterminer des référentiels nationaux. Un PREPS (FIND) a débuté sur les centres de référence de Dijon, Lyon, et la Pitié Salpétrière sur le sujet.

2018_01_assises_Delanne_DNS.docx

P363 : Perception du rôle et des besoins en information de médecins généralistes québécois du Bas-Saint-Laurent, dans le contexte de la susceptibilité génétique aux cancers du sein et de l'ovaire

Auteurs :

Marjorie Bezeau (1, 2), Drouin Régen (3, 4), Chantal Bouffard (1)

1. Pédiatrie, Université de Sherbrooke, Sherbrooke, Canada
2. Génétique, Université de Montréal, Montréal, Canada
3. Pédiatrie, Université Laval, Québec, Canada
4. Des Sciences, Université du Québec à Montréal, Montréal, Canada

Mots clefs : BRCA1, BRCA2, cancer du sein, cancer des ovaires, médecin de famille, oncogénétique, susceptibilité au cancer, transfert de connaissance

Résumé :

Plusieurs tests génétiques permettent d'identifier les personnes susceptibles de développer un cancer du sein ou de l'ovaire et d'estimer leurs risques d'en présenter un. Ils permettent aux médecins de proposer des approches préventives pouvant réduire significativement le taux de mortalité chez les personnes à risques. Toutefois, certaines mesures, comme la mastectomie prophylactique, ne font pas l'unanimité à cause de leurs répercussions psychologiques et physiologiques majeures. Peu importe les positions, il y a consensus sur le fait que l'identification d'une mutation dans un gène associé au cancer du sein et de l'ovaire doit être accompagnée de l'information nécessaire pour que les patient(e)s prennent des décisions éclairées et que les médecins assurent une prise en charge médicale adéquate et équitable.
Pourtant, la littérature indique de nombreuses lacunes concernant : a) l'organisation et la prestation des services; b) les niveaux de connaissances et de formation des professionnel(le)s de santé; c) leurs besoins en information sur les tests génétiques et la prise en charge clinique en cas de risque augmenté. Finalement, la littérature montre que la prise en charge des patient(e)s porteur(euse)s d'une mutation BRCA1/BRCA2 est loin d'être optimale et qu'elle peut même rendre inéquitable l'accès aux interventions préventives.
QUESTIONS DE RECHERCHE : Nous nous sommes alors demandé(e)s : (1) qu'elles étaient les perceptions des médecins généralistes québécois concernant le rôle qu'ils et qu'elles estiment devoir jouer dans le suivi des patient(e)s porteur(euse)s d'une mutation BRCA1/BRCA2 ? (2) Quels étaient leurs besoins en soutien, ressources et formation sur les tests génétiques et la prise en charge des patient(e)s ?
MÉTHODOLOGIE : Une approche qualitative exploratoire, a permis de générer des données approfondies sur un sujet peu exploré, auprès des personnes directement concernées. Pour la phase I du projet, nous avons mené des entrevues dirigées auprès de 13 médecins de famille du Bas-Saint-Laurent (BSL), une des régions du Québec avec les plus hauts taux de cancers du sein liés à des mutations des gènes BRCA1/BRCA2. (Analyse des données inductive thématique).
RÉSULTATS : Les participant(e)s pensent qu'ils n'ont pas assez de formation en génétique pour assurer un suivi adéquat de leurs patient(e)s. Les médecins qui désirent s'impliquer davantage ont des besoins et formations et en soutien différents des médecins qui préfèrent laisser ce suivi aux spécialistes. Certain(e)s rapportent que la génétique est un service difficilement accessible pour les régions éloignées des grands centres.
CONCLUSION : Les besoins des médecins varient en fonction du rôle qu'ils veulent jouer. Les stratégies de formation et de soutien doivent s'adapter à ces besoins qui évoluent aussi avec l'arrivée de nouveaux tests et « panels » de gènes.

Soumission poster Assises MBezeau.docx

P364 : Le choix du diagnostic préimplantatoire: attracteur de l'ambivalence du désir d'enfant dans les maladies génétiques à révélation tardive.

Auteurs :

stephanie staraci (1), elodie schaerer (1), alexandra durr (1), marcela garguilo (1)

1. génétique clinique, Groupe Hospitalier Pitié Salpêtrière, paris, France

Mots clefs : Désir d'enfant, DPI, ambivalence.

Résumé :

A partir de notre expérience clinique de psychologues, conseillère en génétique et généticienne, notre propos abordera la question du choix du DPI pour des couples concernés par des maladies génétiques à révélation tardive telle que la maladie de Huntington. La demande de DPI peut constituer un attracteur de l'ambivalence du désir d'enfant dans le sens où elle peut signifier tout autant un droit d'accès à la parentalité, qu'un empêchement de par la longeur du parcours médical et le faible taux de grossesse dans le DPI. Pour les futurs parents, le DPI permet de travailler le désir d'enfant, d'affirmer une position vis à vis de leur famille, de construire un projet d'enfant, ce qui leur permet de restaurer les ressources narcissique pour devenir parents. La demande de DPI peut être entendue dans bien des cas comme une réponse à la blessure d'appartenir à une famille à risque. Elle peut également être comprise comme le désir de réparation de cette lignée. Il y a dans la demande de DPI une rupture dans la répétition et l'agencement unique des déterminants préexistants. En ce sens, cette demande se veut un avènement.

P365 : La qualité des ARN un challenge pour les études à haut débit: l'exemple de collections du CRB du CEPH

Auteurs :

Jean-Christophe Beaudoin (1), Laetitia Gressin (1), Valérie Morel (1), Marie-Claude Babron (2), Robert Olaso (3), Anne Boland (3), Jean-François Deleuze (4, 3), Hélène Blanché (1)

1. CRB du CEPH, Fondation Jean Dausset-CEPH, Paris, France
2. INSERM UMR 946 Paris; Univ. Paris-Diderot , UMR 946, Sorbonne Paris Cité, Paris, France
3. Centre National de Recherche en Génomique Humaine (CNRGH), Institut de Biologie François Jacob, CEA, Evry, France
4. , Fondation Jean Dausset-CEPH, Paris, France

Mots clefs : ARN, qualité, reproductibilité

Résumé :

La qualité et la traçabilité des échantillons biologiques sont des éléments clés dans la réussite des études génomiques. Lorsqu'un programme est multicentrique, l'organisation spécifique de chaque centre, le contexte particulier à la pathologie, le nombre élevé de prélèvements et un financement limité rendent parfois difficile voire impossible l'établissement d'une collection dans les conditions optimales définies par la littérature. Par ailleurs, le manque de reproductibilité des mesures et/ou des contrôles de qualité réalisés dans les laboratoires reste un challenge et engendre des coûts inutiles lorsque les échantillons doivent être traités sur des plates-formes à haut débit.
Dans le cadre de sa démarche qualité, le CRB du CEPH a entrepris une étude sur les éléments influençant la qualité des ARN circulants prélevés dans le cadre de deux collections multicentriques mises en place depuis 2012. En parallèle, nous avons travaillé avec le CNRGH pour mettre en place une procédure de contrôle de qualité des ARN robuste et reproductible entre les deux centres.
La première analyse a été réalisée sur près de 2000 prélèvements sanguins prélevés sur tubes PAXgene et inclus dans deux collections. Ces prélèvements ont été réalisés dans 17 hôpitaux français publics ou privés. Les kits de prélèvements fournis par le CEPH ont permis de faciliter l'inclusion des patients, le renvoi des prélèvements et d'assurer une traçabilité optimale de ces derniers. Les tubes PAXgene ont ensuite été transférés à température ambiante au CEPH au mieux entre 1 et 19 jours après le prélèvement. A leur arrivée au CEPH, ils ont été congelés immédiatement à -20 °C pendant 1 à 3 jours puis ont été transférés à -80 °C pour un stockage à moyen terme en attente d'extraction. Les ARN ont été extraits sur un Qiacube (Qiagen) avec le kit PAXgene Blood miRNA de Qiagen, quantifiés sur Nanodrop et contrôlés sur Bioanalyzer (Agilent). Les variables suivantes ont été analysées : délai entre le prélèvement et la réception des échantillons, effet du mois de collecte et du centre, délai entre la date de congélation et la date d'extraction.
Cette analyse a confirmé l'importance i) du délai écoulé entre le prélèvement et la congélation de l'échantillon, ii) de la température lors du transport du sang. L'analyse des autres paramètres est en cours.
La seconde analyse a porté sur 80 ARN extraits de tissus envoyés pour un contrôle de qualité au CNRGH en vue de l'analyse ultérieure du transcriptome. La comparaison des résultats a montré que les quantifications sur Nanodrop étaient fiables mais que la prise en compte uniquement de la valeur du RIN pour déterminer la qualité d'un ARN n'était pas suffisante. La mise en place d'une nouvelle procédure de contrôle conjointe a permis sur plus de 220 ARN testés en parallèle dans les deux centres de passer de 13,8 % à 0,1 % de conclusions discordantes. La qualité des ARN ainsi sélectionnés a ensuite été validée par l'analyse des données du transcriptome.

P366 : Identito-vigilance et qualité des ADN dans un CRB : peut-on utiliser un panel de SNP ?

Auteurs :

Laetitia Gressin (1), Jean-Christophe Beaudoin (1), Valérie Morel (1), Sylvie Forlani (2), Stanie Gaete (3), Vanina Jodon (4), Jean-François Deleuze (5), Hélène Blanché (1)

1. CRB du CEPH, Fondation Jean Dausset-CEPH, Paris, France
2. Sorbonne Universités, Université Pierre et Marie Curie (UPMC) Univ Paris 06 UMR S 1127, INSERM U 1127, CNRS UMR 7225, ICM (Institut du Cerveau et de la Moëlle épinière) , Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France
3. CRB de Guadeloupe, CHU de Pointe-à-Pitre, Pointe-à-Pitre, France
4. CRB HUEP-UPMC, site Saint Antoine, Paris, France
5. , Fondation Jean Dausset-CEPH, Paris, France

Mots clefs : Identito-vigilance, ADN, qualité, SNP

Résumé :

La traçabilité des prélèvements, la robustesse du circuit de collecte des données, la qualité des matériels biologiques transformés et leur traçabilité sont à la base de toute étude génétique ultérieure réussie. En effet, les erreurs d'identification des échantillons dans les études génétiques sont souvent non détectables, génèrent des coûts inutiles et diminuent la puissance statistique des analyses ultérieures voire peuvent conduire à des résultats erronés.
Le Centre de Ressources Biologiques (CRB) du CEPH réalise en routine sur les ADNs un contrôle de leur intégrité, une vérification du genre et une empreinte génétique basée sur 10 marqueurs microsatellites de type tétranucléotides sélectionnés parmi les marqueurs des panels CODIS (Combined DNA Index System) et ESS (European Standard Set).
Pour à la fois remplacer ces contrôles et identifier des mélanges éventuels d'ADN, nous avons testé le SNPtrace™ panel de Fluidigm qui comprend 96 SNPs. Ces derniers ont été sélectionnés pour leur informativité quelle que soit l'origine géographique des individus et leur capacité à amplifier l'ADN dans des régions difficiles du génome en vue de définir un indice de qualité de l'ADN. Des marqueurs sur les chromosomes X et Y ont également été sélectionnés pour identifier le genre des ADN. Les tests du panel ont été réalisés sur 94 ADN sélectionnés pour refléter :

- L'origine diverse des ADN (sang, lignée lymphoblastoïde, salive).
- Différentes méthodes d'extraction (précipitation au sel manuelle ou automatisée, phénol-chloroforme).
- Des mélanges d'ADN avec ou sans liens familiaux.
- Des ADN d'origine géographiques très variées (ADN du panel Human Genome Diversity Panel-CEPH).
- Des individus des familles de référence du CEPH pour valider la ségrégation des marqueurs dans des familles.
- Des ADN d'intégrité diverse allant du haut poids moléculaire à l'ADN dégradé.
- Des ADN en échec inexpliqué en séquençage du génome ou de l'exome.
- Des ADN extraits dans quatre CRB français.

Les résultats montrent que les SNP du panel Fluidigm sont tout à fait adaptés pour faire une empreinte génétique, identifier un mélange d'ADN, contrôler le genre et la ségrégation des marqueurs dans des familles. Bien que nous ne l'ayons pas testé, le panel est probablement adapté à la comparaison entre deux tissus prélevés. Par contre, l'établissement d'un score de qualité des ADN avec des SNP ne semble pas plus résolutif que l'évaluation de l'intégrité de l'ADN pour anticiper des échecs en séquençage du génome ou de l'exome.
Bien que la partie manipulation soit facile pour un CRB à moyen ou haut débit et ne requiert pas de mise au point, l'analyse des données faite manuellement est très longue et fastidieuse. La mise en place d'un logiciel d'analyse serait indispensable pour l'utilisation en production du panel dans un CRB.

P367 : Les données pharmacogénétiques dans le séquençage haut débit d'exome : difficultés d'identifications, limites et rareté des phénotypes extrêmes.

Auteurs :

Christel Thauvin-Robinet (1, 2), Yannis Duffourd (3, 4), Emilie Tisserant (4), Julien Thevenon (3, 4), Sophie Nambot (4, 5), Angeline Bruel (6), Patrick Callier (3, 7), Anne-Laure Mosca-Boidron (4, 7), Philippine Garret (4, 8), Charlotte Poé (4), Thibaut Jouan (4), Martin Chevarin (4, 7), Robert Olaso (9), Anne Boland (9), Frédéric Tran Mau-Them (4, 7), Christophe Philippe (4, 7), Maxime Luu (10), Christine Binquet (11), Jean-François Deleuze (9), Céline Verstuyft (12, 13), Laurence Faivre (1, 14)

1. FHU TRANSLAD, CHU Dijon, Dijon, France
2. UMR 1231 équipe GAD, Génétique des Anomalies du Développement, Université de Bourgogne Franche-Comté, Dijon, France
3. FHU TRANSLAD, Centre Hospitalier Universitaire et Université de Bourgogne-Franche Comté, Dijon, France
4. UMR Inserm 1231 GAD « Génétique des Anomalies du Développement », Université de Bourgogne Franche-Comté, Dijon, France
5. Centre de Génétique et Centre de Référence Maladies Rares 'Anomalies du Développement de l'Interrégion Est, CHU Dijon, Dijon, France
6. UMR Inserm 1231 GAD « Génétique des Anomalies du Développement », CHU Dijon, Dijon, France
7. Unité Fonctionnelle Innovation en diagnostic génomique des maladies rares, CHU Dijon, Dijon, France
8. , Laboratoire Cerba, St-Ouen L'Aumône, France
9. Institut de Génomique, CNRGH, Evry, France
10. CIC 14 32 - module plurithématique, CHU Dijon, Dijon, France
11. CIC 1432, CHU Dijon, Dijon, France
12. Laboratoire de génétique moléculaire, pharmacogénétique et hormonologie, GHU Paris-Sud - Hôpital de Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France
13. Unité UMR 1184, Université Paris-Sud, Le Kremlin-Bicêtre, France
14. Centre de référence Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs, CHU Dijon, Dijon, France

Mots clefs : Séquençage Haut Débit, Exome, Données pharmacogénétiques

Résumé :

La médecine connaît actuellement une véritable révolution technologique avec l'avènement des technologies de séquençage haut débit (SHD) pangénomique dans la pratique clinique, laissant entrevoir le développement de la médecine génomique personnalisée. La prescription d'un séquençage pangénomique chez des patients atteints de maladies rares ou de cancers, souvent fortement médicalisés, amène à poser la question de l'analyse systématique des variations pharmacogénétiques sur les données de SHD, afin de mieux orienter la thérapeutique.
Afin d'évaluer sa faisabilité, nous avons rétrospectivement recherché les variants pharmacogénétiques actionnables de catégories IA et IB définies par PharmGKB (64 indications), à partir des données de SHD d'exome (WES) de 700 patients atteints d'anomalies du développement ou de déficience intellectuelle.
Comme attendue, l'analyse bioinformatique réalisée avec les pipelines habituellement utilisés pour le diagnostic de ces maladies rares s'est heurtée à plusieurs difficultés : la fréquence élevée de certains allèles, éliminés par le filtre ne conservant que les variations rares ; la localisation non-exonique d'un certain nombre d'allèles ; le caractère multiallélique de certains allèles incluant un allèle non-exonique. Malgré une adaptation du pipeline, le WES n'a détecté les variations pharmacogénétiques que dans 35/64 indications chez 653/700 patients. Compte tenu de la population d'étude, un focus a été réalisé sur les variations impliquant les gènes CYP2C9, CYP2C19 et CYP2D6, impliqués dans le métabolisme de médicaments pouvant être prescrits dans les pathologies neurodéveloppementales (anti-épileptiques, psychotropes…) et leurs phénotypes extrêmes. Le risque de toxicité médicamenteuse, en déterminant les métaboliseurs lents pour ces gènes, pourrait ainsi être prévenu chez 35/700 patients pour le CYP2C9 et 24/700 patients pour le CYP2C19. En revanche, les données de WES ne permettent pas d'avoir une prédiction suffisante pour le gène CYP2D6, ni les risques de résistance au traitement pour CYP2C9 et CYP2C19.
Cette étude montre que la recherche des variations pharmacogénétiques sur les données de WES nécessite d'adapter le pipeline utilisé dans les maladies rares et ne permet pas de conclure pour environ la moitié des indications définies par PharmGKB (catégories 1A et 1B). Par ailleurs, parce qu'au moins un de ces variants a été identifié dans la large majorité des patients (93 %), il semble difficile de les analyser systématiquement. En revanche, ces données pourraient être recherchées au cas par cas en fonction de la situation clinique qui pourrait justifier de traitements particuliers, et les analyses pourraient être ciblées sur les allèles responsables de phénotypes extrêmes qui sont actuellement les seules situations qui entraîneraient la révision de la prescription médicamenteuse. Les liens entre généticiens et pharmacogénéticiens devront se renforcer pour optimiser le service rendu aux patients.

P368 : Interaction entre des gènes liés à l'ATPase et l'exposition passive au tabac pendant la petite enfance dans l'hyperréactivité bronchique dans des familles asthmatiques

Auteurs :

Marie-Hélène Dizier (1, 2), Patricia Margaritte-Jeannin (1, 2), Lucile Pain (3), Chloé Sarnowski (1, 2), Myriam Brossard (1, 2), Hamida Mohamdi (1, 2), Nolwenn lavielle (1, 2), Marie-Claude Babron (1, 2), Jocelyne Just (4), Mark Lathrop (5), Catherine Laprise (3), Emmanuelle Bouzigon (1, 2), Florence Demenais (1, 2), rachel nadif (6, 7)

1. UMR-946, INSERM, Paris, France
2. IUH , Université Paris Diderot, Paris, France
3. -, Université du Québec, Chicoutimi, Canada
4. Service d'allergologie prédiatrique, Hôpital Armand Trousseau, Paris, France
5. -, Mc'Gill university and Genome Quebec's innovation centre, Montréal, Canada
6. UMR-1168, INSERM, Villejuif, France
7. UMR-1168, Université Versailles St Quentin-en-Yvelines, Versailles, France

Mots clefs : BHR, FBAT, ETS, GxE interaction, ATP, asthma

Résumé :

A positional cloning study in the 17p11 region of bronchial hyperresponsiveness (BHR) in the French Epidemiological study on the Genetics and Environment of Asthma (EGEA) families showed significant interaction between *DNAH9* genetic variants and early life environmental tobacco smoke (ETS) exposure.
Our objective was to identify other genetic variants interacting with ETS on BHR by investigating genes involved in "*ATP-binding*" and "*ATPase activity*" pathways, which both include *DNAH9*, are targets of cigarette smoke and are implicated in the movement of respiratory cilia.
Family-based interaction test between ETS exposed *versus* unexposed BHR siblings were conducted in 388 EGEA families. Among 20 SNPs showing interaction signals ($P \leq 5 \times 10^{-3}$), one SNP reached the significant threshold ($P = 2 \times 10^{-5}$) after correcting for multiple testing. This latter result was not replicated at nominal level in the 253 Saguenay–Lac-Saint-Jean (SLSJ) families ($P = 0.13$) but was improved in the combined analysis of the two samples ($P = 1 \times 10^{-5}$). Another SNP replicated in SLSJ families ($P = 0.003$), showed suggestive interaction by meta-analysis ($P = 6 \times 10^{-5}$). These results were confirmed using a robust log-linear interaction test.
The SNPs showing interaction with ETS belong to the *ATP8A1* and *ABCA1* genes, which play a role in the maintenance of asymmetry and homeostasis of lung membrane lipids, and interact with key regulatory factors affected by smoking.

P369 : Diagnostic moléculaire de la dyskinésie ciliaire primitive dans une cohorte tunisienne: identification d'un allèle majeur

Auteurs :

Rahma MANI (1), Imed MABROUK (1), Bruno COPIN (2, 3), Florence DASTOT (4), Guy MONTANTIN (5), Sylvie TISSIER (5), Jihen BOUGUILA (6), Lamia BOUGHAMOURA (6), Salma BEN AMEUR (7), Mongia HACHICHA (7), Khadija BOUSSETTA (8), Raoudha BOUSSOFFARA (9), Samia HAMOUDA (10), Abir BEDOUI (6), Habib BESBES (11), Seif MEDDEB (8), Estelle ESCUDIER (2, 3), Serge AMSELEM (2, 3), Zohra SOUA (1), Marie LEGENDRE (2, 3)

1. Unité de Recherche UR14ES19,, Faculté de Médecine de Sousse, Sousse, 4002, Tunisie
2. INSERM UMR_S933 and UPMC Univ Paris 06,, Hôpital Trousseau, Paris, F-75012, France
3. U.F. de Génétique Moléculaire, Hôpital Trousseau, AP-HP, Paris, F-75012, France
4. U.F. de Génétique Moléculaire,, Hôpital Trousseau, AP-HP, Paris, F-75012, France
5. U.F. de Génétique Moléculaire,, Hôpital Trousseau, Paris, F-75012, France
6. Service de Pédiatrie,, CHU Farhat HACHED, Sousse, 4002, Tunisie
7. Service de Pédiatrie,, CHU Hedi CHAKER, Sfax, 3089, Tunisie
8. Département de Pédiatrie B,, Hôpital Béchir HAMZA, Tunis, 1006, Tunisie
9. Service de Pédiatrie,, CHU Tahar SFAR, Mahdia, 5100, Tunisie
10. Département de Pédiatrie B, Hôpital Béchir HAMZA, Tunis, 1006, Tunisie
11. Service de Pédiatrie,, CHU Fattouma BOURGUIBA, Monastir, 5000, Tunisie

Mots clefs : Hot spots, Dyskinésie Ciliaire Primitive, DNAH5, CCDC39 et NGS

Résumé :

La dyskinésie ciliaire primitive (DCP) est une maladie héréditaire récessive des cils mobiles de prévalence 1/15000. Le diagnostic est souvent retardé et repose sur des examens hautement spécialisés (analyse du battement ciliaire en vidéo-microscopie et de l'ultrastructure ciliaire par microscopie électronique en transmission (ME)). En raison de l'hétérogénéité génétique (37 gènes impliqués, plus de 600 exons), les techniques de séquençage de nouvelles générations (NGS) ouvrent de nouvelles perspectives de diagnostic.
Les objectifs de ce travail étaient : 1/ confirmer le diagnostic de DCP chez 40 patients tunisiens (35 familles), 2/ décrire le spectre mutationnel et 3/ proposer une approche de diagnostic moléculaire au sein de cette population en absence de NGS.
Les 40 patients ont été recrutés au sein de 6 services de pédiatrie (Sousse, Monastir, Mahdia, Tunis, Nabeul et Sfax). Ils présentaient une forte suspicion de DCP basée sur un syndrome sino-pulmonaire associé à un *situs inversus* et/ou une détresse respiratoire néonatale et/ou un taux de NO nasal effondré et/ou une anomalie ciliaire identifiée par ME.
Chez 22 patients indépendants, le criblage par SSCP des 5 exons considérés comme *hot spot* de *DNAH5*, principal gène de DCP, n'a identifié aucune mutation. Dans le cadre d'une collaboration avec le laboratoire de génétique moléculaire à l'hôpital Trousseau à Paris, le séquençage de l'ADN de ces 22 patients par panel NGS a identifié une cause moléculaire chez 17 patients (17/22, 77%). Treize autres patients indépendants sont en cours d'analyse.
Parmi ces 17 patients, des mutations ont été identifiées dans 5 gènes : *CCDC39* (n=9, 53%), *DNAH5* (n=4, 23.5%), *HYDIN* (n=2, 11.7%), *DNAI1* (n=1, 5.8%) *et DRC1* (n=1, 5.8%). La mutation c.2190del, p.(Glu731Asnfs*31) de l'exon 16 de *CCDC39* a été retrouvée chez 41% des patients (5 homozygotes et 2 hétérozygotes composites). Cette mutation déjà décrite à l'état homozygote chez 4 patients nord-africains résulte probablement d'un effet fondateur.
Au total, le séquençage des hots spots de *DNAH5* ne semble pas adapté à cette population. En revanche, le criblage de l'exon 16 de *CCDC39* permettrait de caractériser au moins un des allèles mutés chez 41% des patients. Chez les patients nord-africains présentant une forte suspicion clinique de DCP, nous proposons une stratégie séquentielle comportant : 1/ séquençage Sanger de l'exon 16 de *CCDC39*, 2/ séquençage Sanger des 19 autres exons en cas de mutation hétérozygote de *CCDC39* et 3/ panel NGS. Chez les 5/22 patients pour lesquels aucune mutation n'a été caractérisée par étude de panel NGS, une étude d'exome est envisagée afin de rechercher de nouvelles étiologies de DCP. Une étude d'haplotype comprenant des patients marocains, algériens et tunisiens chez lesquels la mutation c.2190del a été identifiée au laboratoire sera réalisée afin de confirmer l'effet fondateur de cette mutation au sein de ces populations.

Assises_génétique2018_rahma_final.docx

P370 : Equipe mobile médico-sociale pour les maladies et handicaps rares en pays de la loire

Auteurs :

ISABELLE BAZANTE (1), MATHIEU FERTE (1), BERENGERE THIBAULT (1), MURIELLE RIBEIRO (1), CAROLINE YAMEOGO (1), ALEXANDRA COSTES (1), MELANIE KASSEGNE (1), SONIA GIRARD (2), CATHERINE PATERON (1), ROZENN CARRASCO (2), YANN PEREON (2), DOMINIQUE BONNEAU (1)

1. PRIOR ERHR, CHU ANGERS, ANGERS, France
2. PRIOR ERHR, CHU NANTES, NANTES, France

Mots clefs : maladies rares, handicaps rares, complexité, dispositif intégré, réponse globale, guichet unique

Résumé :

La Plateforme Régionale pour l'Information et l'Orientation pour les maladies Rares (PRIOR) est une structure régionale mise en place en 2009 dans les Pays de la Loire pour d'améliorer le parcours de vie des personnes atteintes de maladies rares.
En 2015, PRIOR a été choisi par l'ARS PDL pour structurer l'Equipe Relais « Handicaps Rares » prévu par le 2nd schéma national pour les handicaps rares 2014-2018.

Pour répondre à cet appel d'offre, PRIOR a établi une collaboration avec 22 partenaires comprenant entre autres des institutions médico-sociales spécialisées et des associations de patients. Ce projet est porté par la Mutualité Anjou Mayenne et par le CHU d'Angers. Ses buts sont :

1. D'accompagner et de soutenir les projets de vie des personnes ayant une maladie rare et/ou un handicap rare afin qu'elles puissent bénéficier d'une réponse globale, adaptée et suivie dans le temps.
2. D'instaurer une collaboration entre les différents partenaires du projet afin de développer une logique commune d'accompagnement.
3. De structurer l'offre pour des parcours de vie individualisés en s'appuyant sur les ressources et les compétences de proximité.

En outre, PRIOR-Equipe Relais Handicaps Rares travaille en étroite collaboration avec les filières de santé maladies rares récemment mises en place de façon à augmenter les synergies entre les différents acteurs impliqués dans les maladies et handicaps rares.

P371 : Les données secondaires actionnables et non actionnables : avis des professionnels de service de génétique

Auteurs :

Céline Dampfhoffer (1), Lilia Ben Slama (2), Pierre-Antoine Rollat-Farnier (3), Pascal Pujol (4), Sylvie Odent (5, 6), Christel Thauvin (7, 8), CRMR et CCMR Filière de Santé AnDDI-Rares (9), Damien Sanlaville (10, 1), Laurence Faivre (7, 8), David Genevieve (11, 12)

1. Filière de santé AnDDI-Rares, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
2. Filière de santé AnDDI-Rares, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
3. Laboratoire de Cytogénétique Constitutionnelle, CBPE, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
4. Service de génétique médicale et chromosomique - Unité d'oncogénétique, CHRU de Montpellier, Montpellier, France
5. Centre de Référence des Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs, Service de génétique clinique, CHU de Rennes, Rennes, France
6. Filière de santé AnDDI-Rares, CHU de Rennes, Rennes, France
7. Centre de Référence des Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs, Centre de Génétique, CHU de Dijon, Dijon, France
8. Filière de santé AnDDI-Rares, CHU de Dijon, Dijon, France
9. Centres de Référence des Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs, CRMR et CCMR, Dijon, France
10. Centre de Référence des Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs, Laboratoire de Cytogénétique Constitutionnelle, CBPE, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
11. Centre de Référence des Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs, Département de génétique médicale, CHRU de Montpellier, Montpellier, France
12. Filière de santé AnDDI-Rares, CHRU de Montpellier, Montpellier, France

Mots clefs : NGS, données secondaires, gènes actionnables, conseil génétique

Résumé :

Les nouvelles techniques de séquençage à très haut débit, aussi appelées NGS (*Next Generation Sequencing*), révolutionnent la médecine génomique et s'accompagnent d'enjeux éthiques majeurs. Le séquençage du génome génère une quantité de données très importante dont l'interprétation est complexe. L'analyse des données peut révéler des informations génétiques sans liens avec la pathologie à l'origine du test, appelées données secondaires (DS). L'American College of Medical Genetics and Genomic (ACMG) fut le premier à publier des recommandations sur le rendu des DS. Actuellement la gestion de ces données fait toujours débat au niveau international.
Une session de Développement Personnel Continu (DPC) a été organisée lors du 31ème Séminaire de Génétique Clinique et de Conseil Génétique (février 2017) afin de réaliser un état des lieux, en France, sur le positionnement et les pratiques actuelles des professionnels des services de génétique vis à vis des DS. Les professionnels inscrits au DPC ont répondu à une série de questions axée sur leur expérience vis à vis des données secondaires, leur positionnement quant à la gestion de ces données, une mise en situation via trois cas théoriques et les recommandations de l'ACMG. Le panel de 82 professionnels se compose de généticiens (cliniciens, moléculaires, cytogénéticiens), d'internes et de professionnels non médicaux.
Les professionnels ayant participé au DPC ont déjà été confrontés au rendu de données secondaires, le plus souvent suite à la prescription d'une CGH-array (60%) et/ou plus rarement des tests de type NGS (13%). Ils souhaitent majoritairement rendre ce type de données, particulièrement si elles confèrent un bénéfice thérapeutique et/ou préventif pour le patient et sa famille (> 80%). La question sur l'adéquation du consentement a divisé le panel avec seulement 44% des professionnels qui estiment que celui est adapté. Interrogés sur la liste des 56 gènes actionnables préconisée par l'ACMG, 21 % des professionnels semblent considérer que celle-ci est trop restrictive. En pratique, face à la mise en évidence de DS actionnables faisant partie de la liste minimale de l'ACMG (BRCA1), ou des DS ayant plutôt des conséquences en termes de conseil génétique (DMD et CFTR), la majorité des professionnels rendrait ces informations aux patients (> 70%). Après avoir participé aux séminaires, il s'avère que les professionnels sont toujours prêts à rendre les DS aux patients, et souhaitent davantage exclure les gènes actionnables de l'analyse pour les tests prénataux.
La session de DPC a permis d'identifier les positionnements, des généticiens français ayant participé, face aux problématiques des données secondaires identifiées suite à un test génétique (ACPA/NGS). Des questions essentielles n'ont pas été abordées, telles que la recherche active des gènes actionnables. Or avec le déploiement du plan France Médecine Génomique 2025, une harmonisation des pratiques sur le plan national est un enjeu majeur.

Dampfhoffer_Abstract_Assises2018.pdf

P372 : La mucoviscidose révélée en période anténatale par la non-visualisation isolée de la vésicule biliaire : les cas ne sont pas rares

Auteurs :

Anne BERGOUGNOUX (1, 2), Thierry BIENVENU (3), Jean-Marie JOUANNIC (4), Alix DE BECDELIEVRE (5), Fanny VERNEAU (1), Natacha GAITCH (3), Michel KOENIG (1, 2), Caroline RAYNAL (1, 2), Emmanuelle GIRODON (6)

1. Génétique Moléculaire, CHU de Montpellier, IURC, Montpellier, France
2. Université de Montpellier EA7402, CHU de Montpellier, Montpellier, France
3. Biologie et Génétique Moléculaires, Cochin, APHP, Paris, France
4. Service de Médecine Foetale, Hôpital Armand Trousseau, AP-HP, HUEP, Paris, France
5. Département de Génétique, Hôpital Henri-Mondor, AP-HP, Créteil, France
6. Biologie et Génétique Moléculaire, Cochin, APHP, Paris, France

Mots clefs : Mucoviscidose, CFTR, vésicule biliaire, signes d'appel échographiques, diagnostic prénatal

Résumé :

Le diagnostic de mucoviscidose peut être révélé pendant la vie fœtale devant des anomalies digestives aux échographies des 2e et 3e trimestres, principalement une hyperéchogénicité intestinale ou des images de dilatation digestives. Devant de tels signes, les recommandations nationales et internationales (Dequeker 2009) préconisent la recherche de mutations fréquentes du gène *CFTR* dans un premier temps, puis de mutations rares en cas d'identification d'une mutation fréquente chez un parent ou le fœtus. La non visualisation de la vésicule biliaire (NVVB) a été décrite occasionnellement chez les fœtus atteints de mucoviscidose, le plus souvent en association d'autres signes digestifs (de Becdelièvre 2011, Duguépéroux 2012), mais très rarement de façon isolée. La NVVB isolée a ainsi une très faible valeur prédictive positive pour la mucoviscidose (de Becdelièvre 2011).
Dans une série rétrospective multicentrique de 2011 à 2017 portant sur 1125 cas d'anomalies digestives fœtales, nous décrivons 38 cas de mucoviscidose dont cinq présentaient une NVVB isolée (13,2%), confirmée sur au moins deux échographies successives. Ce signe était observé dès 22-23 semaines d'aménorrhée (SA) pour trois fœtus, à partir de 26 SA pour un fœtus et à partir de 33 SA pour le dernier cas. Parmi ces cinq cas, trois étaient homozygotes pour la mutation c.1521_1523del (F508del) et deux étaient hétérozygotes composites pour une autre mutation fréquente et une mutation rare associée à la mucoviscidose.
Un échantillonnage réalisé en 2015 sur 146 cas d'anomalies digestives fœtales a permis d'identifier 20 cas d'anomalies isolées de la VB (soit 13,7% des cas d'anomalies digestives fœtales) dont 8 étaient une non visualisation. L'un de ces 8 cas était atteint de mucoviscidose (1/8 NVVB isolée, 12,5%).
L'ensemble de ces résultats montre l'importance à accorder à la NVVB, même lorsque ce signe est observé de façon isolée, que cela soit au 2e ou 3e trimestre de la grossesse. Ces données pourraient faire rediscuter les référentiels concernant les échographies de dépistage dès lors que l'examen de la vésicule biliaire ne fait pas partie des items à renseigner pour chaque examen. En cas de NVVB, une étude du gène *CFTR* impliqué dans la mucoviscidose devrait être considérée.

P373 : Identification de variants au niveau de séquences cis-régulatrices du gène CFTR

Auteurs :

Mégane COLLOBERT (1), Stéphanie MOISAN (2), Geneviève HERY-ARNAUD (3), Marie-Pierre AUDREZET (2), Claude FEREC (2)

1. Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (INSERM), U1078, Faculté de Médecine et des Sciences de la Santé, Université de Bretagne Occidentale (UBO), BREST, France
2. Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (INSERM), U1078, Laboratoire de Génétique Moléculaire et d'Histocompatibilité, Centre Hospitalier Régional Universitaire (CHRU), Hôpital Morvan, BREST, France
3. Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (INSERM), U1078, Centre Hospitalier Régional Universitaire (CHRU), BREST, France

Mots clefs : Mucoviscidose, CFTR, cis-ruption disorders, séquençage, variants régulateurs

Résumé :

Le gène *CFTR* (Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator) a été identifié en 1989. Bien que plus de 2000 mutations aient été découvertes, des patients atteints de mucoviscidose ou de formes frontières présentent un génotype incomplet ou des phénotypes extrêmes. Les éléments de régulation, décrits au sein du promoteur, ne peuvent, à eux seuls, expliquer la complexe régulation tissu-spécifique de ce gène. Ces dernières années grâce au développement des techniques d'étude de la conformation chromatinienne, plusieurs éléments de régulation à distance ont été identifiés comme impliqués dans ce contrôle d'expression (Moisan et *al.* 2016).
Cette étude a pour but d'étudier l'implication de 'cis-ruption', c'est-à-dire de dysfonctionnement d'un élément cis-régulateur, dans la mucoviscidose et dans une de ses formes frontières, la *Congenital Bilateral Absence of the Vas Deferens* (CBAVD) chez des patients présentant des phénotypes extrêmes (colonisation précoce ou tardive à *Pseudomonas aeruginosa*) ou un génotype incomplet.
17 séquences *cis*-régulatrices du gène *CFTR* ont été séquencées par une approche à haut débit (*Fluidigm)* chez une centaine de patients. Cette étude a permis l'identification de variants, certains étant décrits dans la base de données *GnomAD*. Plusieurs variants dans nos groupes d'études sont significativement plus retrouvés que dans la population générale ($p<10^{-5}$). Ces variants plus fréquents pourraient donc être associés à des cas de mucoviscidose ou de CBAVD. Certains, localisés dans des sites de fixation d'éléments de régulation, corréleraient bien avec des variants régulateurs en étant impliqués dans l'organisation chromatinienne et sur l'expression du gène *CFTR*.

Résumé M.Collobert.pdf

P374 : Evaluer et favoriser l'autonomie du patient face aux données secondaires

Auteurs :

Sandra Mercier (1), Guillaume Durand (2)

1. Service de Génétique Médicale, CHU de Nantes, Nantes, France
2. CAPHI (EA 2163)- USR 3491, CNRS - MSH Ange Guépin, Nantes, France

Mots clefs : Données secondaires, éthique, autonomie, séquençage haut-débit

Résumé :

L'accessibilité au séquençage haut débit, en particulier au séquençage d'exome voire du génome, pose la question d'informer ou non le patient des données secondaires qui pourraient être générées par ce type d'analyses.
Une première objection fait appel à l'une des finalités traditionnelles de la médecine : « primum non nocere ». En effet, de telles informations ne sont-elles pas néfastes pour le patient et ses apparentés en ce qu'elles risquent de déclencher des troubles de l'anxiété, une dépression, des prises de décisions irrationnelles, etc. : un ensemble d'effets qui s'ajouterait au vécu souvent difficile de la pathologie génétique initiale et serait délétère sur son état de santé en général ?
La seconde objection porte en particulier sur les capacités de compréhension et de raisonnement du patient : ce dernier est-il bien capable de comprendre et d'apprécier la complexité d'une information relative à une donnée génétique avec l'incertitude en termes de pénétrance et de pronostic qu'elle peut contenir ? Est-il en mesure d'appréhender toutes les conséquences pour lui et sa famille ?
La réponse à ces objections et finalement à la question du dévoilement ou non des données secondaires au patient repose sur l'évaluation de l'autonomie psychique de ce dernier : quelles sont les capacités de *ce* patient à recevoir de telles informations ? Comment, en tant que médecin, apprécier et favoriser cette autonomie en délivrant une information claire et *adéquate* (et non pas *complète*) ? Et comment recueillir un consentement ou un refus libre et « véritablement » éclairé concernant la recherche délibérée de variants pathogènes?
Il nous paraît pertinent de dissocier la recherche des données secondaires des données primaires et de proposer au patient qui le souhaiterait, une recherche de données secondaires après un accompagnement médico-psychologique tel qu'il est pratiqué actuellement pour le diagnostic présymptomatique.
Nous défendons une « stratégie de l'échelle variable » inspirée de Drane (1985) et Appelbaum (2007) pour adapter cet accompagnement : plus les données secondaires sont incertaines et les mesures de soin ou de prévention restreintes, plus les degrés de l'autonomie psychique qui doivent être promus et recherchés par le médecin lors de la consultation doivent être élevés. La question serait donc d'aider les patients qui le souhaiteraient à accéder à de telles informations en évaluant et en favorisant, au cas par cas, les capacités de chacun à recevoir celles-ci.
Enfin, si l'on considère que la recherche de données secondaires peut être bénéfique à certains patients, dans une mesure d'équité, il devrait être possible de la proposer en population générale ce qui pose la question de l'intérêt et de la faisabilité de telles pratiques en termes de santé publique.

Appelbaum P., N Engl J Med, 2007; 357 : 1834-40
Drane J. F., Hastings Cent Rep. 1985 Apr;15(2):17-21.

P375 : L'invalidation partielle de l'expression de UPF1 stabilise les messagers nonsens d'un gène beta0 thalassémique.

Auteurs :

Amel HAJ KHELIL SAAD (1), Mireille DEGUILLIEN (2), Madeleine MORINIERE (2), Ali SAAD (3), Jemni BEN CHIBANI (1), Faouzi BAKLOUTI (2)

1. Laboratoire de Biochimie et Biologie Moléculaire, Faculté de Pharmacie, Université de Monastir, Monastir, Tunisie
2. Centre de Génétique Moléculaire et Cellulaire, Université Claude Bernard Lyon 1, Lyon, France
3. Service de Cytogénétique, génétique moléculaire et biologie de la reproduction, Hôpital Farhat Hached, Sousse, Tunisie

Mots clefs : Mutation d'épissage, isoformes d'ARNm, shRNA, transfection, protéine UPF1, voie NMD.

Résumé :

Introduction : La cellule élabore des mécanismes de surveillance afin d'assurer la fidélité de l'expression génique. L'apparition d'un codon de terminaison prématuré (PTC) sur l'ARNm suite à une anomalie d'épissage ou celle d'une mutation génomique, condamne la molécule d'ARN à une dégradation rapide par le mécanisme de surveillance NMD (Nonsense-Mediated mRNA Decay). Ce mécanisme fait intervenir un complexe protéique, dont UPF1 est composant cytoplasmique clé.
Nos travaux antérieurs ont permis de mettre en évidence la présence *in vivo*, en quantité faible, de plusieurs isoformes d'épissage issus du variant d'épissage du gène beta-globine IVSI+2T->G (Haj Khelil et al, 2008, FEBS J 275: 1150-1162). L'objectif de notre travail consiste à apporter un argument direct de l'implication du mécanisme NMD dans la très faible expression du messager beta-globine muté.
Matériel et méthodes : Nous nous sommes focalisés sur l'extinction partielle du gène *UPF1*, et ce par la méthode des ARN interférents. La méthode d'extinction choisie est celle des shRNA inductibles en présence de Tet répresseur induit par la Doxycycline. Tout d'abord, une co-transfection des minigènes *UPF1* et Tet répresseur dans des conditions induites par la doxycycline est réalisée suivie d'une transfection par le minigène beta-globine à l'état sauvage et muté (contenant la mutation IVSI+2T->G). L'efficacité d'expression des shRNAs et des minigènes beta-globine est testée par Western blot (anti-UPF1) et RT-PCR semi-quantitative (beta-globine).
Résultats : Le Western blot a montré une diminution de la protéine UPF1 par rapport au témoin non traité par les shRNA et par rapport au témoin traité par un shRNA non spécifique. La RT PCR semi quantitative a montré que les ARNm anormalement épissés dans les cellules contenant le gène beta-globine muté étaient plus abondants lorsque UPF1 est diminuée. Ces résultats ont permis d'appuyer l'hypothèse de la dégradation par NMD des ARNm anormalement épissés.
Conclusion : Ce travail constitue un essai pour approfondir l'analyse des ARNm du gène beta-globine dans le cas normal et pathologique. D'autre part, nous avons montré que la technique des ARN interférents est une approche efficace pour les applications thérapeutiques par extinction de gènes.

Resume Amel Haj Khelil.doc

P376 : Grossesse interrompue après diagnostic préimplantatoire liée à la présence de plusieurs maladies récessives chez un couple consanguin

Auteurs :

Gaëlle THIERRY (1), Sophie PEDRONNO (1), Amélie ROCHER-MONNIER (1), Sébastien RICHARD (1), Brigitte MENANTEAU (1), Ingrid WIGNIOLLE (2), Sébastien SCHMITT (1), Stéphane BEZIEAU (1), Florence LEPERLIER (3), Paul BARRIERE (3), Thomas FREOUR (3), Cédric LE CAIGNEC (1)

1. Service de Génétique Médicale, CHU de Nantes, NANTES, France
2. Service d'anatomie pathologie, Hôpital Jean-Verdier, BONDY, France
3. Biologie et médecine de la reproduction, CHU de Nantes, NANTES, France

Mots clefs : DPI, consanguinité, mucoviscidose, dysplasie tubulaire rénale

Résumé :

La consanguinité augmente le risque de transmission de maladies génétiques autosomiques récessives. Dans le cadre du Diagnostic Préimplantatoire (DPI), nous recevons des demandes de couples consanguins pour des pathologies variées. Nous vous rapportons ici le cas d'un couple de cousins germains d'origine turque à risque de transmettre la mucoviscidose. Le frère de la dame est atteint de la maladie, le diagnostic moléculaire a été fait en 2008 et la mutation c.2051_2052delAAinsG (anciennement 2183AA>G) est retrouvée à l'état homozygote dans le gène *CFTR*. La patiente est dépistée en janvier 2012 alors qu'elle est enceinte (première grossesse). Elle est porteuse de la mutation familiale. Son conjoint est, lui aussi, hétérozygote pour cette mutation. Le couple réalise un Diagnostic Prénatal (DPN), le fœtus est hétérozygote. Lors de la seconde grossesse en 2013, le DPN est, cette fois, défavorable et une interruption médicale de grossesse est réalisée. En 2014, le couple dépose une demande de DPI dans notre centre et la première tentative de DPI est réalisée en mai 2015. Trois embryons sont analysés à J3, deux sont atteints et le troisième est transféré frais à J5. La grossesse est évolutive mais l'échographie de 28SA met en évidence un anamnios, des reins hyperéchogènes et une absence de vessie faisant évoquer une dysplasie tubulaire rénale. La grossesse est interrompue à 6 mois et l'analyse moléculaire révèle, en août 2016, la présence d'une mutation homozygote (c.1369del) dans le gène *ACE*. Cette mutation est présente à l'état hétérozygote chez les deux parents. Le couple nous a donc sollicités pour réaliser un DPI pour une double indication moléculaire (mucoviscidose et dysplasie tubulaire rénale) en novembre 2016. Nous avons accepté leur demande en mars 2017 et élaboré un protocole composé de 18 couples d'amorces afin d'obtenir une informativité suffisante autour des deux loci (7q31.2 et 17q23.3). Le protocole a été validé en septembre 2017 mais lors de l'organisation de la consultation pluridisciplinaire, le couple nous a informés qu'une grossesse spontanée avait démarré pour laquelle le double DPN est en cours.

P377 : Une étude d'association basée sur le séquençage de génomes entiers confirme l'importance majeure du locus SCN5A dans la susceptibilité génétique au syndrome de Brugada

Auteurs :

Matilde Karakachoff (1), Pierre Lindenbaum (1), Joanna Giemza (1), Julien Barc (1), Solena Le Scouarnec (1), Floriane Simonet (1), Anne Boland (2), Delphine Bacq (2), Vincent Meyer (2), Jean-Baptiste Gourraud (1), Antoine Leenhardt (3, 4), Pascale Guicheney Guicheney (5), Emmanuelle Génin (6), Vincent Probst (1), Christian Dina (1), Jean-François Deleuze (2), Jean-Jacques Schott (1), Richard Redon (1)

1. , l'institut du thorax, INSERM, CNRS, UNIV Nantes, CHU Nantes, Nantes, France
2. , Centre National de Recherche en Génomique Humaine, CEA, Evry, France
3. , CNMR Maladies Cardiaques Héréditaires Rares, Hôpital Bichat, Paris, France
4. , Université Paris Diderot, Sorbonne Paris Cité, F-75018, Paris, France
5. , INSERM UMR 1166, Faculté de Médicine, Pierre et Marie Curie, UPMC, Paris, France
6. , INSERM UMR 1078, CHRU Brest, UNIV Brest, Brest, France

Mots clefs : séquençage du génome entier, sindrome de Brugada, NGS, variants rares

Résumé :

Le syndrome de Brugada (BrS) est un trouble héréditaire du rythme cardiaque. Selon la littérature, entre 20% et 30% de patients atteints de BrS sont porteurs de variations génétiques rares du gène SCN5A (codant pour la principale sous-unité du canal sodique cardiaque). Bien qu'une vingtaine d'autres gènes ont été décrits comme facteurs de prédisposition génétique au BrS, les bases génétiques de la pathologie restent encore inconnues dans la majorité des cas. Deux études ont précédemment permis de confirmer l'implication du SCN5A comme gène de susceptibilité du BrS. La première, une étude d'association sur génome entier portant sur 312 patients atteints de BrS, a conduit à l'identification de 3 haplotypes communs prédisposant à la maladie, dont deux au locus *SCN5A-SCN10A*. La seconde, qui consistait à tester 45 gènes de susceptibilité aux arythmies cardiaques héréditaires par séquençage ciblé, sur un échantillon de 167 cas de BrS et 167 contrôles, a permis d'identifier un enrichissement significatif en variants rares (MAF inférieure à 0,1%) parmi les cas, pour le seul gène SCN5A.
Nous avons ici évalué si les tests d'association basés sur une approche par séquençage du génome entier permettent la détection simultanée d'allèles rares et fréquents associés à la pathologie. Pour cela nous avons séquencé, sur station Illumina HiSeq X Five (profondeur moyenne minimale de 30X), les génomes entiers de 328 cas index français atteints de BrS et 404 sujets d'origine française inclus comme population de référence. En appliquant à la fois une analyse d'association classique et une analyse par gène de type « burden » sur les génotypes obtenus (méthode */multi-calling/g-vcf/*, bonnes pratiques du Broad/GATK), nous sommes parvenus à reproduire à la fois les signaux d'association précédemment obtenus sur le locus SCN5A-SCN10A et l'enrichissement en variants rares sur le gène SCN5A.
Ces résultats démontrent la pertinence du séquençage du génome entier pour interroger le spectre complet de la variation génétique, des variants rares aux haplotypes communs, associée à la susceptibilité aux pathologies complexes. Nous explorons actuellement si notre approche de séquençage génomique permet l'identification de nouveaux variants - structuraux ou ayant une MAF entre 1% et 5% - potentiellement impliqués dans la pathologie.

Abstract_Karakachoff-ASSISES2018.docx

P378 : Diagnostic anténatal de mégavessie : apport de l'examen foetopathologique

Auteurs :

Maude GRELET (1), Radia FRITIH (2), ANNE LAURE CHESNAIS (3), Catherine JARNET (4), Julia TORRENTS (2), FANNY PELLUARD (5), Nicole PHILIP (6), Sabine SIGAUDY (6)

1. DEPARTEMENT DE GENETIQUE MEDICALE, CHU TIMONE ENFANTS APHM, Marseille, France
2. LABORATOIRE ANATOMO-PATHOLOGIE ET NEUROPATHOLOGIE, BMT CHU TIMONE APHM, MARSEILLE, France
3. LABORATOIRE ANATOMO PATHOLOGIQUE, CH AVIGNON, AVIGNON, France
4. SECTEUR DE PLACENTOLOGIE-FOETOPATHOLOGIE, HOPITAL SAINTE MUSSE, TOULON, France
5. UNITE DE FOETOPATHOLOGIE, CHU BORDEAUX, BORDEAUX, France
6. DEPARTEMENT DE GENETIQUE MEDICALE, CHU TIMONE ENFANTS APHM, MARSEILLE, France

Mots clefs : mégavessie, malformations, ACPA

Résumé :

La vessie peut-être visualisée dès 10 semaines d'aménorrhée en échographie lorsque la production d'urine est fonctionnelle. Ainsi le diagnostic de mégavessie peut-être posé à l'échographie du 1er trimestre. Le pronostic dépend notemment de la taille de la vessie, de l'évolution de celle-ci, du retentissement sur le système urinaire haut, de la quantité de liquide amniotique, des anomalies caryotypiques. La prévalence de mégavessie au 1er trimestre varie entre 1/330 à 1/1670 selon les publications. Nous avons réalisé une étude rétrospective dans 3 centres de diagnostic prénataux et 5 laboratoires effectuant des examens foetopathologiques. 59 autopsies fœtales avec mégavessie ont été incluses dont 5 cas de mort fœtale in utéro. Parmi ces fœtus plus de 80% présentaient des anomalies associées à celles du système urinaire. Les plus représentées avec plus de la moitié des cas, étaient les anomalies digestives, parmi lesquelles 16 cas d'imperforation anale non diagnostiquées en anténatal. Une cardiopathie et un retard de croissance intra-utérin étaient retrouvés chacun dans environ 15% des autopsies et avaient été décrits en anténatal dans un peu moins de la moitié des cas. Trois fœtus présentaient des malformations du système nerveux central diagnostiquées en anténatal. L'examen foetopathologique a permis de poser les diagnostics de Rubinstein Taybi, d'association VATER et VACTERL, de troubles du développement sexuels, et de confirmer ou d'infirmer des obstructions du tractus urinaire inférieur ainsi que des syndromes de Prune Belly diagnostiqués en anténatal. Des analyses génétiques ont été réalisées dans 55 cas par caryotype avec une ACPA complémentaire pour 8 d'entre eux. Des anomalies chromosomiques ont été mises en évidence dans 6 cas dont une variation du nombre de copies à l'ACPA. Cette étude portant sur 59 autopsies fœtales met l'accent sur les anomalies associées au diagnostic de mégavessie susceptibles d'être recherchées grâce aux progrès réalisés en imagerie fœtale.

P379 : Etat des lieux de la spécialité de Génétique Médicale en France

Auteurs :

Florence Riccardi (1, 2), Perrine Brunelle (3, 2), Aude Tessier (4), Arthur Sorlin (5), Kevin Cassinari (6, 7), Sandra Mercier (8), Damien Sanlaville (9)

1. Département de génétique médicale, Hôpital de la Timone, CHU de Marseille, Marseille, France
2. SIGF, Institut Imagine, Paris, France
3. Service de Génétique Médicale, CHRU de Lille, Lille, France
4. Service de Génétique Médicale, CHU de Rouen, Rouen, France
5. Service de Génétique Médicale, CHU de Nancy, Nancy, France
6. Laboratoire de Cytogénétique, Département de Génétique, CHU de Rouen, Rouen, France
7. U1245, UNIROUEN, Normandie Univ, Centre Normand de Génomique et Médecine Personnalisée, Rouen, France
8. CNEPGM, Service de Génétique Médicale, CHU de Nantes, nantes, France
9. CNEPGM, Service de Génétique, HCL, GHE, CBPE, Bron, France

Mots clefs : Génétique Médicale, SIGF, CNEPGM, internes, généticiens

Résumé :

La spécialité de Génétique Médicale (GM) a été créée en 1995. Elle permet aux étudiants en médecine, éligibles après le concours de l'internat (Epreuves Classantes Nationales ou ECN), d'acquérir une formation de pointe, clinique et biologique, en génétique. La formation se déroule sur 4 ans et peut être prolongée par une année de Master 2 Recherche. Deux semaines d'enseignement national sont organisées par le Collège National des Enseignants et Praticiens de Génétique Médicale (CNEPGM) chaque année. Notre objectif est de faire un état des lieux de la spécialité de GM en 2018. Nous avons réalisé une enquête au sein de chaque centre hospitalo-universitaire afin de recueillir les données relatives aux parcours des anciens internes. Nous avons diffusé un questionnaire, par voie électronique, à l'ensemble des internes et anciens internes, membres de la Société des Internes en Génétique de France (SIGF).
Depuis 1995, près de 90 internes ont été formés et exercent actuellement le métier de généticien en France. Depuis 2010, une forte augmentation du nombre d'internes a été observée. En 2018, nous recensons 86 internes en cours de formation (promotions ECN 2013 à 2017) avec une répartition sur l'ensemble du territoire. Actuellement, la majorité des internes complètent leur formation en s'inscrivant à un voire deux Diplômes Inter-Universitaires (DIU) et à un Master 2 Recherche au cours de leur internat. Parmi les médecins généticiens ayant validé le Diplôme d'Etudes Spécialisées (DES) de GM, 56% sont des généticiens cliniciens, 23% exercent en laboratoire (dont 14% en cytogénétique et 9% en génétique moléculaire), 14% sont onco-généticiens et seulement 7% ont une pratique mixte. Concernant les aspirations professionnelles des internes en 2018, on note que la majorité d'entre eux souhaiterait avoir une pratique mixte à la fin de l'internat.
Bien qu'encore peu connue des étudiants en médecine et du grand public, la spécialité de GM est une entité unique au sein des spécialités médicales. Grâce à un réel engagement du CNEPGM et de la SIGF, la formation nationale s'est développée et structurée pour répondre aux besoins de formation des internes. Avec la réforme du troisième cycle des études médicales, la formation ne cesse de s'améliorer et de nombreux projets innovants vont voir le jour en 2018: consultations simulées avec des acteurs, séances d'enseignement présentiel intéractif, e-carnet... La SIGF a permis la création d'un réseau national de jeunes généticiens permettant d'améliorer la communication et l'échange d'informations sur la spécialité. Même si des inquiétudes existent concernant l'orientation professionnelle en post-internat, l'attractivité de la spécialité de GM augmente chaque année. Une réflexion sur la répartition et l'organisation de la formation à l'échelon local en adéquation avec les politiques territoriales de santé et les besoins de la population est indispensable.

SIGF_Etat des lieux de la formation de Médecin Généticien en France_vf.docx

P380 : Place de l'analyse des gènes du surfactant dans la démarche diagnostique des pneumopathies interstitielles diffuses de l'enfant et l'adulte

Auteurs :

Nadia Nathan (1), Marie Legendre (2), Raphaël Borie (3), Diane Bouvry (4), Mickaël Afanetti (5), Juliette Albuisson (6), Carole Bailly (7), Keren Borensztajn (2), Afifaa Butt (1), Bruno Copin (8), Aurore Coulomb l'Hermine (9), Bruno Crestani (3), Jean-Charles Dalphin (10), Marie-Laure Dalphin (11), Florence Dastot le Moal (2), Christophe Delacourt (12), Bertrand Delaisi (13), Antoine Deschildre (14), Paul De Vuyst (15), Bruno Diot (16), Claire Dromer (17), Jean-Christophe Dubus (18), Philippe Duquesnoy (2), Emilie Filhol Blin (1), Lisa Giovannini-Chami (7), Violaine Giraud (19), Carine Gomez (20), Anne Gondouin (10), Laurent Gouya (21), Alice Hadchouel (12), Véronique Houdouin (13), Caroline Kannengiesser (22), Claire Lefevre (23), Sylvain Marchand Adam (16), Jean-Marc Naccache (24), Valérie Nau (2), Hilario Nunes (4), Clément Picard (25), Grégoire Prévot (26), Philippe Reix (27), Martine Reynaud-Gaubert (20), Elisabeth Rivaud (25), Elise Schaefer (28), Aurélie Tatopoulos (29), Caroline Thumerelle (14), Dominique Valeyre (4), Vincent Cottin (30), Annick Clement (1), Serge Amselem (2)

1. UMR-S933, Service de pneumologie Pédiatrique et Filière de soins RespiFIL, Inserm et APHP Hôpital Trousseau, Paris, France
2. Département de génétique médicale et UMR-S933, Inserm et APHP Hôpital Trousseau, Paris, France
3. Service de Pneumologie, Hôpital Bichat, APHP, Paris, France
4. Service de Pneumologie, Hôpital Avicenne, APHP, Bobigny, France
5. Service de Réanimation pédiatrique, CHU Nice, Nice, France
6. Service de Génétique Hôpital Européen Georges Pompidou, APHP, Paris, France
7. Service de Pneumologie Pédiatrique, CHU Nice, Nice, France
8. Service de Génétique Moléculaire et UMR-S933, Inserm et APHP Hôpital Trousseau, Paris, France
9. Service d'Anatomopathologie, Inserm et APHP Hôpital Trousseau, Paris, France
10. Service de Pneumologie, CHU Besançon, Besancon, France
11. Service de Pneumologie Pédiatrique, CHU Besançon, Besancon, France
12. Service de Pneumologie Pédiatrique, Hôpital Necker Enfants Malades, APHP, Paris, France
13. Service de Pneumologie Pédiatrique, Hôpital Robert Debré, APHP, Paris, France
14. Service de Pneumologie Pédiatrique, CHU Lille, Lille, France
15. Service de Pneumologie, Hôpital Erasme, Bruxelles, Belgique
16. Service de Pneumologie, CHU Tours, Tours, France
17. Service de Pneumologie, CHU Bordeaux, Bordeaux, France
18. Service de Pneumologie Pédiatrique, CHU Marseille, Marseille, France
19. Service de Pneumologie, Hôpital Ambroise Paré, APHP, Boulogne Billancourt, France
20. Service de Pneumologie, CHU Marseille, Marseille, France
21. Inserm U1149; CNRS ERL 8252; Centre de recherche sur l'inflammation, Inserm et CNRS Hôpital Louis Mourier, Colombes, France
22. Service de Génétique Moléculaire Hôpital Bichat, Inserm et APHP Hôpital Bichat, Paris, France
23. Service de réanimation néonatale, hôpital Port Royal, APHP, Paris, France
24. Service de Pneumologie, Hôpital Tenon, APHP, Paris, France
25. Service de Pneumologie, Hôpital Foch, Suresnes, France
26. Service de Pneumologie, CHU Toulouse, Toulouse, France
27. Service de Pneumologie Pédiatrique, CHU Lyon, Lyon, France
28. Service de Pneumologie, CHU Strasbourg, Strasbourg, France
29. Service de Pneumologie Pédiatrique, CHU Nancy, Nancy, France
30. Service de Pneumologie, CHU Lyon, Lyon, France

Mots clefs : Surfactant, pneumopathie interstitielle diffuse, génétique

Résumé :

Introduction
Les pneumopathies interstitielles diffuses (PID) de l'enfant et l'adulte regroupent des pathologies hétérogènes et sévères. Une cause génétique est identifiée pour 2 à 20% des patients. Les gènes le plus souvent en cause sont ceux du complexe des télomérases, suivis des gènes du système du surfactant alvéolaire, qui sont communément associées à des formes pédiatriques de PID. Cette étude a pour but de rechercher des mutations des gènes du surfactant, sans a priori d'âge, dans une large cohorte prospective de PID.

Matériel et méthodes
Les patients ont été recrutés et inclus de façon prospective au sein de la filière de soins pour les maladies respiratoires rares RespiFIL. Les patients présentant des mutations des gènes du complexe des télomérases ont été exclus. Les exons et les

régions introniques flanquantes des gènes *SFTPA1*, *SFTPA2, SFTPB, SFTPC, ABCA3, NKX2-1* ont été séquencés. Les mutations retrouvées dans ces gènes ont été étudiées in silico et des tests fonctionnels sont en cours. Parallèlement, les données cliniques des patients ont été recueillies à l'aide d'une fiche standardisée.

Résultats
En 4 ans, 477 patients indépendants ont été inclus (190 enfants et 287 adultes). L'âge moyen au diagnostic de PID était de 33 ans (0-100), et le sexe ratio (hommes/femmes) de 1,47. La PID était familiale pour 22% des patients, et un antécédent personnel ou familial de cancer pulmonaire était retrouvé chez 44 patients. Une mutation dans l'un des gènes du système du surfactant a été identifiée chez 63 (13%) patients, dont 31 (16%) enfants et 32 (11%) adultes. Excepté les 2 mutations qui ont été identifiées dans *SFTPB* et retrouvées seulement chez l'adulte, tous les gènes étudiés ont été impliqués chez des adultes et des enfants.

Discussion et conclusion
Contrairement aux idées reçues, les gènes du surfactant pulmonaire sont impliqués dans les PID à tout âge. Leur analyse semble donc indispensable à la démarche étiologique des PID, et ce sans a priori d'âge. La recherche systématique de mutations dans ces gènes, associée à une description précise du phénotype, permettra de progresser dans la description de ces maladies rares.

P381 : Génétique quantitative dans le syndrome de Marfan classique

Auteurs :

Thomas Grange (1), Louise Benarroch (1), Melodie Aubart (1), laurent gouya (2), Pauline Arnaud (1), marie sylvie gross (1), nadine hanna (3), catherine boileau (3), guillaume jondeau (4)

1. LVTS INSERM U1148, Hopital Bichat, paris, France
2. CRMR Syndrome de Marfan et apparentés, Hopital Bicaht, paris, France
3. departement de genetique, Hopital Bichat, paris, France
4. CRMR Syndrome de Marfan et apparentés, Hopital Bichat, paris, France

Mots clefs : marfan; heritabilité; varabilité

Résumé :

Le syndrome de Marfan est une pathologie dominante autosomique, associée à des anomalies du tissu conjonctif et touche principalement les systèmes cardiovasculaire (risque de dissection aortique et de décès), squelettique, cutané, pulmonaire et oculaire (ectopie du cristallin notamment). Il existe une grande variabilité dans l'expression clinique et dans la sévérité du syndrome, variabilité à la fois inter-familiale et intra-familiale. L'importance des facteurs modificateurs hérités n'a pas été évaluée dans cette population. Etant donné la précocité de l'apparition des signes, il s'agit d'un bon modèle pour apprécier l'importance des facteurs génétiques plus qu'environnementaux.
Nous avons d'abord étudié la distribution de 21 signes cliniques dans différents appareils (cardiovasculaire, squelette, peau, poumons, œil) dans une cohorte de 1306 patients porteurs d'une mutation dans le gène *FBN1*. Tous étaient phénotypés de façon exhaustive et standardisée. Nous avons retrouvé des fortes corrélations (significativité $< 3.10^{-4}$, correction selon Bonferroni) entre la présence/gravité des différentes atteintes d'un même système, ce qui suggère des déterminants communs. A l'inverse, les signes de différents systèmes étaient peu corrélés. La classification hierarchique des signes cliniques confortait ces observations.
Nous avons ensuite adapté un modèle classique de génétique quantitative pour estimer l'héritabilité de chacun des signes cliniques à partir des corrélations entre parents. L'agrégation familiale est marquée pour la plupart des signes cliniques ainsi que leur héritabilité (8 signes cliniques avec héritabilité >50%).
Nous avons évalué l'influence du locus *FBN1* par une nouvelle stratégie, et avons trouvé que ce locus avait un rôle déterminant dans la variance pour l'ectopie du cristallin (notamment R=45% de corrélation entre cousin pour la chirurgie de l'ectopie du cristallin.
Enfin, du fait de la prévalence significativement plus élevée des évènements aortiques (chirurgie ou dissection) chez les hommes que chez les femmes, nous avons recherché un effet Carter, confirmé par l'augmentation du risque aortique chez les cas avec transmission maternelle de la mutation. Ceci 1) renforce l'hypothèse polygénique dans la détermination de la variabilité du phénotype cardiovasculaire et 2) indique un sur-risque chez les enfants de mère ayant présenté un évènement aortique.
Ensemble, nos résultats indiquent qu'une partie importante de la variabilité phénotypique observée dans la population des patients Marfan avec mutation dans le gène FBN1 est en rapport avec des facteurs héritables. Ces facteurs semblent communs entre différentes manifestations à l'intérieur d'un même système, mais diffèrent entre signes de différents systèmes. Ceci souligne l'importance de la recherche des facteurs modificateurs impliqués dans la sévérité du syndrome de Marfan.

Abstract_assises2018.docx

P382 : L'évolution du métier de généticien clinicien avec l'arrivée des nouvelles technologies : l'avis des généticiens cliniciens, généticiens biologistes, spécialistes et patients, et regard de l'organisation européenne

Auteurs :

Laurent Demougeot (1), Elodie Gautier (2), Geneviève Baujat (3), Anne-Sophie Lapointe (4), Elise Schaefer (5), Alice Goldenberg (6), Bertrand Isidor (7), Alain Verloes (8), Estelle Colin (9), Damien Haye (10), Valérie Lagarde (11), Isabelle Maystadt (12), Emmanuelle Ranza (13), Sandrine Marlin (10), Alinoe Lavillaureix (10), AnDDI-Rares (14), BRAINTEAM (15), CARDIOGEN (16), DEFISCIENCE (17), FAI²R (18), FAVA-MULTI (19), FILFOIE (20), FILNEMUS (21), FILSLAN (22), FIMARAD (23), FIMATHO (18), FIRENDO (24), G2M (21), MARIH (25), MCGRE (26), MHEMO (17), MUCO CFTR (17), NEUROSPHYNX (23), ORKID (27), OSCAR (23), RESPIFIL (28), SENSGENE (29), TETECOU (23), ACLF (30), AFGC (31), ANPGM (32), FeCLAD (33), Réseau ACHRO-PUCE (34), Christel Thauvin-Robinet (1), Laurence Faivre (1)

1. Filière de santé AnDDI-Rares - Centre de référence des anomalies du développement et syndromes malformatifs de l'Est, CHU Dijon, Dijon, France
2. Fédération Hospitalo-Universitaire Médecine Translationnelle et Anomalies du Développement (TRANSLAD), CHU Dijon, Dijon, France
3. Service de Génétique Médicale, APHP Necker, Paris, France
4. Filière de santé AnDDI-Rares - Centre de référence des anomalies du développement et syndromes malformatifs d'Ile-de-France, APHP Necker, Paris, France
5. Filière de santé AnDDI-Rares - Centre de référence des anomalies du développement et syndromes malformatifs de l'Est, CHRU Strasbourg, Strasbourg, France
6. Filière de santé AnDDI-Rares - Centre de référence des anomalies du développement et syndromes malformatifs du Nord-Ouest, CHU Rouen, Rouen, France
7. Filière de santé AnDDI-Rares - Centre de référence des anomalies du développement et syndromes malformatifs de l'Ouest, CHU Nantes, Nantes, France
8. Filière de santé AnDDI-Rares - Centre de référence des anomalies du développement et syndromes malformatifs d'Ile-de-France, APHP Robert Debré, Paris, France
9. Service de Génétique Médicale, CHU Angers, Angers, France
10. Service de Génétique Médicale, APHP Pitié Salpétrière, Paris, France
11. Service de Génétique Médicale, CH Le Havre, Le Havre, France
12. Service de Génétique Médicale, Institut de Pathologie et de Génétique, Gosselie, Belgique
13. Unité d'ORL pédiatrique, pédo-audiologie, HU Genève, Genève, Suisse
14. , CHU Dijon, Dijon, France
15. , CHU Angers, Angers, France
16. , APHP Pitié Salpétrière, Paris, France
17. , HC Lyon, Lyon, France
18. , CHU Lille, Lille, France
19. , APHP Bichat, Paris, France
20. , APHP Saint-Antoine, Paris, France
21. , APH Marseille, Marseille, France
22. , CHU Nice, Nice, France
23. , APHP Necker, Paris, France
24. , APHP Cochin, Paris, France
25. , APHP Saint Louis, Paris, France
26. , APHP Mondor, Paris, France
27. , CHU Montpellier, Motpellier, France
28. , APHP Trousseau, Paris, France
29. , CHU Strasbourg, Strasbourg, France
30. , CHU Reims, Reims, France
31. , CHU Rennes, Rennes, France
32. , CHU Bordeaux, Bordeaux, France
33. , APHP Robert Debré, Paris, France
34. , CH Lyon, Lyon, France

Mots clefs : Evolution technologique, Evolution médicale, Génétique clinique, Enquête

Résumé :

Depuis des décennies, les généticiens se sont toujours adaptés aux différentes évolutions technologiques et médicales. La France se prépare à l'arrivée massive des tests génétiques de nouvelle génération dans le soin, en particulier pour les maladies

rares et le cancer. Il s'avère donc indispensable que les généticiens cliniciens (GC) réfléchissent à leurs rôles et activités dans une future organisation de médecine génomique personnalisée, comme l'on fait d'autres pays précurseurs.
Sur le modèle du Royaume Uni, une enquête a été déployée en septembre 2017 auprès de 5 publics concernés : les GC, les généticiens biologistes, les médecins spécialistes et les patients d'une part, pour connaitre les points de vue et attentes de chacun des groupes ; et les responsables de l'ERN ITHACA d'autre part, pour connaitre les réflexions et organisations mise en place dans les autres pays européens. Ces 5 questionnaires ont été développés *via* google form et transmis par mail aux publics respectifs par le biais des sociétés savantes et filières de santé.
126 questionnaires ont été reçus pour les GC, 130 pour les biologistes, 172 pour les médecins spécialistes, et 404 pour les patients. Avec la généralisation de l'accès aux technologies de SHD, les GC estiment que les patients devront être orientés en consultation de génétique le plus tôt possible, dès la suspicion de la maladie génétique, ou au moins après un premier bilan classique négatif. 60% des cliniciens estiment que la prescription d'un examen de SHD doit être strictement réservée aux généticiens cliniciens, et 100% pour la prescription d'exome ou de génome. Néanmoins, 80% des GC estiment qu'un spécialiste ayant acquis des compétences en génétique pourrait prescrire une analyse par panel de gènes. Les principales limites qu'ils soulèvent sont : le temps limité dédié aux implications et conséquences des tests ; la question des données secondaires ; la gestion des variants de signification inconnue ; le conseil génétique de la famille. A noter néanmoins que les GC voient ce rôle de première intention essentiellement dans le domaine des syndromes polymalformatifs (75%) mais de façon moins systématique dans la déficience intellectuelle non syndromique (44%), les pathologies génétiques mono-organe de l'adulte comme les rétinites pigmentaires (24%) ou le diabète MODY (6%). Avec l'arrivée de la médecine génomique, les GC sont plutôt inquiets de l'augmentation du nombre de consultations, et du risque de diminution de la qualité de l'information au patient si les tests sont de plus en plus prescrits par des non généticiens. Ils pensent majoritairement qu'il faudra impliquer plus largement les conseillers en génétique et augmenter leurs nombres de postes (83%). Ces résultats seront confrontés à ceux des 4 autres enquêtes, ainsi que celle concernant les conseillers en génétique, en cours de déploiement, dans le but de définir des pistes vers une nouvelle organisation, si celle-ci s'avère nécessaire.

P383 : Une étude d'association multicentrique identifie 12 nouveau allèle à risque pour le syndrome de Brugada : implications cliniques et étiologiques.

Auteurs :

Christian Dina (1), Julien Barc (2), Jean-Baptiste Gourraud (3), Floriane Simonet (1), Rafik Tadros (4), Federico Manevy (4), International Research Network on the Genetics of (5), Artur Wilde (6), Vincent Probst (3), Jean-Jacques Schott (2), Connie Bezzina (4), Richard Redon (2)

1. Génétique, l'institut du thorax, INSERM, CNRS, UNIV Nantes, CHU Nantes, Nantes, France, Nantes, France
2. , l'institut du thorax, INSERM, CNRS, UNIV Nantes, CHU Nantes, Nantes, France, Nantes, France
3. Cardiologie, l'institut du thorax, INSERM, CNRS, UNIV Nantes, CHU Nantes, Nantes, France, Nantes, France
4. , Department of Clinical and Experimental Cardiology, Heart Failure Research Center, Academic Medical Center, Amsterdam, Pays-Bas
5. , International Research Network on the Genetics of Brugada syndrome, Nantes, France
6. Cardiologie, Department of Clinical and Experimental Cardiology, Heart Failure Research Center, Academic Medical Center, Amsterdam, Pays-Bas

Mots clefs : GWAS, génétique, Brugada, mort subite cardiaque, SNP

Résumé :

Objectif
Le syndrome de Brugada (SBr) est un trouble du rythme cardiaque rare présentant une transmission autosomale dominante. SBr est associé à une augmentation de risque de morts subite cardiaque et est caractérisé par une élévation du segment ST. Initialement cette maladie était considérée comme Mendélienne, et principalement due à des mutations rares dans le gène *SCN5A.* Toutefois, une première analyse d'association génome entier (GWAS1), incluant 312 patients et 1115 témoins, a mis en évidence l'effet de variants génétiques fréquents, au niveau des gènes *SCN5A, SCN10A* mais également au niveau du gène *HEY2*, probablement impliqué dans la croissance cardiaque. L'odds-ratio pour les porteurs de tous les allèles à risque, aux trois loci, était de 21. Ces résultats nous ont amenés à étendre cette première étude d'association afin d'identifier de nouvelles voies biologiques impliquées dans cette pathologie et d'estimer la part d'héritabilité de ce désordre arythmique associée à des allèles à risque fréquents en population.

Méthodes
Nous avons inclus 2112 patients (SBr) à partir de 6 populations Européennes et 6731 témoins extraits de populations qui étaient génétiquement les plus proches des cas: (GoNL (Hollandais), KORA (Allemands), UK10K (Britanniques), DESIR and PREGO (Français)).
Ces deux groupes ont été génotypés sur puce Affymetrix CEU (874patients /2820 témoins), PMRA (502/1001) ou Illumina GSA (736/2910). Les génotypes de 40 millions de SNP ont été imputés à partir du panel Haplotype Reference Consortium, comprenant 64 000 individus. Les données ont été combinées en une méta-analyse combinant les Zscores de chaque étude (inverse normale).

Resultats
Nous retrouvons les trois loci identifiés dans la GWAS originale : *SCN10A* (rs10428132, $p=3.9x10^{-61}$), *Hey2* (rs3799708, $p=3.3x10^{-15}$) et *SCN5A* (rs9833086, $p=3.9x10^{-12}$). Au sein du llocus *SCN5A/SCN10A*, nous mettons en évidence 6 nouvelles associations indépendantes ($r^2 < 0.2$). De plus, nous avons identifié 4 nouveaux signaux significatifs sur le chromosome 8 ($p=6.10^{-10}$), *le* chromosome 16 ($p=1.05.10^{-10}$), le chromosome 12 ($p=1.2.10^{-10}$), et le chromosome 11 ($p=4.10^{-8}$). Enfin, nous avons détecté 6 signaux suggestifs d'association à 7 différents loci, qui sont en cours de réplication au sein de la population japonaise.

Conclusions
Nos résultats confirment l'importance des variants fréquents dans le risque du syndrome de Brugada mais également le rôle prépondérant de la région SCN5A/SCNA10A. En effet, nous mettons en évidence un complexe de risque génétique dans cette région du chromosome 3p, avec au moins 8 marqueurs indépendants du risque de cette pathologie. Enfin, les nouveaux loci identifiés vont permettre de mieux caractériser l'étiologie de ce trouble du rythme à risque de mort subite cardiaque, de créer un score de risque génétique de l'effet cumulé des allèles à risque, et de tester l'intérêt potentiel de ce score pour la prise en charge clinique

Brugada_NewGWAS Assises2RR.doc

P384 : Syndrome Nail-Patella : une maladie peu investiguée mais aux conséquences identitaires, interpersonnelles et émotionnelles difficiles.

Auteurs :

carole Fantini-Hauwel (1), laura Geerts (1), Elodie BRUGALLE (2), Sylvier Manouvrier-Hanu (3), Pascal Antoine (2)

1. Centre de recherche en psychopathologie, psychologie clinique et psychosomatique, ULB, bruxelles, Belgique
2. SCALAB, UNIVERSITE LILLE 3- NORD DE FRANCE, lille, France
3. EA7364 RADEME Maladies rares du développement et du métabolisme , Faculté de Médecine Université Lille 2, Lille, France

Mots clefs : Nail-Patella, qualite de vie, vécu de la maladie

Résumé :

Le syndrome Nail-Patella est une pathologie génétique affectant 1 naissance sur 50 000 environ, causée par une mutation LMX1B et qui se caractérise par des malformations du squelette (ongles, genoux et coudes). Peu de recherches se sont interessées aux conséquences de ces anomalies pourtant visibles touchqnt les individues depuis leur plus jeune age.
L'objectif de la présente recherche était de comprendre en profondeur l'expérience subjective des patients atteints de ce syndrome et les conséquences des symptômes sur la construction de l'identité personnelle. De cette façon, les résultats permettront de proposer des pistes d'interventions ou de "bonnes pratiques" afin d'améliorer l'expérience des patients et de résoudre ces difficultés potentielles dans le cadre du conseil génétique. 9 patients (sur 18 contactés) ont accepté de prendre part à des entretiens semi-dirigés qui ont ensuite été analysés selon la méthode d'analyse phénoménologique interprétative (IPA).
Les résultats ont permis de mettre en lumière une enfance caractérisée par des incapacités physiques affectant les activités sociales et scolaires. Les participants ont développé leur identité en se considérant comme différent des autres; une différence qui sous-tend une sensibilité exarcébée au regard souvent critique des autres avec pour corrolaire des difficultés d'auto-acceptation, des difficultés interpersonnelles et un retrait social. Tout au long de leur développement , les patients ont appris à mettre en œuvre certaines stratégies d'adaptation afin de limiter les conséquences interpersonnelles. À l'âge adulte, les participants montrent une pseudo acceptation de leurs symptômes physiques, mais les souffrances physiques et psychologiques persistent au fil du temps.
Discussion: La recherche a souligné l'inadaptation des activités scolaires et un besoin d'aide pour améliorer l'insertion sociale de ces enfants à l'école afin de limiter les conséquences dévelopementales surtout identitaires. En outre, un accompagnement psychologique spécifique pourrait être proposé à tous les membres des familles touchées par le syndrome de Nail-patella, compte tenu de l'influence importante des difficultés d'auto-acceptation et du retrait social sur le développement des enfants.

P385 : Epidémiologie des fentes oro-faciales : expérience du registre de malformations congénitales de l'Ile de La Réunion entre 2004 et 2013.

Auteurs :

Bérénice DORAY (1, 2), Caroline CHANE FANE (2, 3), Jennyfer CHEN KANG CHEE (2), Bénédicte BERTAUT-NATIVEL (4, 2), Hanitra RANDRIANAIVO (4, 2)

1. Service de Génétique, CHU La Réunion , SAINT-DENIS, Réunion
2. CIC-EC, CHU La Réunion, SAINT-PIERRE, Réunion
3. Service d'Odontologie, CHU La Réunion, SAINT-DENIS, Réunion
4. Service de Génétique, CHU La Réunion, SAINT-PIERRE, Réunion

Mots clefs : Fentes oro-faciales, épidémiologie, génétique, diagnostic prénatal

Résumé :

Objectifs : Analyse des données cliniques et épidémiologiques des fentes oro-faciales et évaluation du diagnostic prénatal.
Matériel et Méthodes : Etude rétrospective réalisée à partir des données du Registre de Malformations Congénitales de La Réunion entre 2004 et 2013.
Résultats : 195 fentes sont collectées (prévalence globale de 13,3/10 000 naissances, dont 129 fentes labiales et labio-palatines (FL±P) et 66 fentes palatines (FP). Le sexe-ratio des FL±P est de 1,6 tandis que celui des FP est de 1. Les FL±P sont labiales dans 22% des cas, labio-alvéolaires dans 7% et labio-palatines dans 71% des cas. Elles sont unilatérales dans 78% des cas (à prédominance gauche dans 49%), bilatérales dans 19% et médianes dans 3% des cas. Les 66 FP sont divisées en 55% de fentes totales et 45% de fentes postérieures ; 24% s'intègrent dans une séquence de Pierre Robin. 33% des FL±P (42/129) sont associées à d'autres malformations congénitales, avec identification d'un syndrome chromosomique dans 11 cas (dont 6 trisomies 18 et 3 trisomies 13), d'un syndrome génique dans 9 cas (dont 2 syndromes CHARGE, 2 syndrome de Fryns de La Réunion, 2 ostéochondrodysplasies, 1 syndrome EEC, 1 syndrome de Treacher Collins, 1 syndrome de Kabuki), d'un syndrome tératogène (2 cas de syndrome d'alcoolisation fœtale, 2 cas de diabète) ou d'une association dans 4 cas (3 associations SCHISIS, 1 association MURCS). 44% des FP (29/66) sont associées à d'autres malformations congénitales, d'autant plus fréquentes que la FP s'intègre dans une séquence de Pierre Robin (75% versus 34%) : il s'agit d'un syndrome chromosomique dans 9 cas (dont 2 microdélétions 22q11.2), de 4 syndromes géniques (dont 2 syndromes de Stickler, 1 syndrome d'Apert et 1 syndrome de Treacher-Collins) et 6 syndromes tératogènes (3 cas de SAF, 2 embryopathies au valproate et 1 cas de de diabète).
Parmi les 129 cas de FL±P, 100 (78%) sont diagnostiquées par l'échographie anténatale. Le taux de diagnostic prénatal de ces fentes progresse avec le temps. Par contre, au cours des dix années, aucun cas de fente palatine n'est diagnostiqué en prénatal.
Conclusion : La prévalence globale des fentes oro-faciales est intermédiaire pour les FL±P (8,8 /10 000), faible pour les FP (4,5 / 10 000) par rapport aux autres pays du globe. L'association fréquente à d'autres anomalies congénitales impose la réalisation d'un bilan malformatif et génétique systématique. Le diagnostic prénatal devient satisfaisant pour les FL±P, encore très insuffisant pour les FP. Enfin, cette étude conforte les différences épidémiologiques, embryologiques et génétiques des FL±P d'une part, des FP d'autre part.

Fentes faciales.docx

P386 : Apport de l'Analyse Chromosomique sur Puce à ADN dans la prise en charge des malformations cérébrales isolées en période prénatale : étude d'une cohorte de 219 fœtus

Auteurs :

Eudeline ALIX (1), Morgane PLUTINO (2), Claire BENETEAU (3), Marc-Antoine BELAUD-ROTUREAU (4), Sophie BRISSET (5), Patrick CALLIER (6), Charles COUTTON (7), Céline DUPONT (8), Delphine FAUVERT (9), Sarah GUTERMAN (10), Sylvie JAILLARD (4), Philippe JONVEAUX (11), Houda KARMOUS-BENAILLY (2), Cédric LE CAIGNEC (3), Nathalie MARLE (6), Christine MUTI (12), Jacques PUECHBERTY (13), Véronique SATRE (7), Brigitte SIMON-BOUY (12), Anne-Claude TABET (8), Gérard TACHDJIAN (5), Marianne TILL (1), Lucie TOSCA (14), Gaëlle VIEVILLE (7), Valérie MALAN (15), François VIALARD (10), Damien SANLAVILLE (1)

1. Service de Génétique, , HCL, GHE, CBPE, Lyon, France
2. Service de Génétique Médicale, Laboratoire de Cytogénétique, Hôpital Archet2,, CHU de Nice, Nice, France
3. Service de génétique médicale, , CHU Nantes, Nantes, France
4. Service de Cytogénétique et Biologie Cellulaire - CHU de Rennes,, IRSET U1085- INSERM, Rennes, France
5. AP-HP, Service d'Histologie-Embryologie-Cytogénétique,, Hôpitaux universitaires Paris-Sud, site Antoine Béclère, Clamart, France
6. Laboratoire de Génétique Chromosomique et Moléculaire,, CHU de Dijon, Dijon, France
7. Laboratoire de Génétique Chromosomique, Centre Hospitalier Universitaire Grenoble Alpes,, Institut Albert Bonniot, INSERM 1209, CNRS UMR 5309, Université Grenoble Alpes, Grenoble, France
8. AP-HP, Laboratoire de Cytogénétique, Département de Génétique, , Hôpital Robert Debré, Paris, France
9. Unité de Cytogénétique, CHI Poissy Saint-Germain, Poissy, France
10. Unité de Cytogénétique, , CHI Poissy Saint-Germain, Poissy, France
11. Laboratoire de génétique, CHRU de Nancy,, Université de Lorraine, Inserm U954, Nancy, France
12. Laboratoire de biologie,, Centre Hospitalier de Versailles, Le Chesnay, France
13. Département de Génétique Médicale, Hôpital Arnaud de Villeneuve,, CHU de Montpellier, Montpellier, France
14. AP-HP, Service d'Histologie-Embryologie-Cytogénétique,, Hôpitaux universitaires Paris-Sud, site Antoine Béclère, Paris, France
15. Service d'histologie, embryologie et cytogénétique,, CHU Paris - Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France

Mots clefs : ACPA, DPN, Malformations cérébrales

Résumé :

Les malformations congénitales touchent environ 2,5 % des naissances vivantes. Elles constituent un ensemble hétérogène, souvent de nature sporadique et pour lesquelles les anomalies cérébrales sont au premier plan. L'identification en période prénatale de malformations cérébrales conduit fréquemment à une IMG.
Le travail présenté est le résultat d'une étude collaborative rétrospective proposée par l'ACLF sur l'année 2015 à laquelle ont participé les laboratoires de l'ACLF et du réseau AChroPuce. Cette étude a pour objectif d'évaluer le nombre et le type de variation du nombre de copies (CNV) mis en évidence par Analyse Chromosomique sur Puce à ADN (ACPA) lors du diagnostic prénatal chez des fœtus porteurs d'anomalies cérébrales isolées.
La cohorte est constituée de 219 fœtus issus de 12 centres français et réunis en 6 groupes. Cinq groupes concernent des anomalies cérébrales isolées : i) du corps calleux (60 cas), ii) de la fosse postérieure (10), iii) de fermeture du tube neural (42), iv) de microcéphalie (1) et, v) d'holoproencéphalies (4). Les autres types d'anomalies cérébrales isolées ou les anomalies cérébrales multiples sont réunis dans un sixième groupe (102 cas). Des CNVs non polymorphiques ont été rapportés dans 9.6% des cas (21 sur 219). Parmi ceux-ci, l'ACPA a permis la mise en évidence de CNVs non détectés au caryotype chez 62 % des fœtus (13/21).
Pour chaque groupe, nous étudierons les CNVs en fonction : i) de leur localisation, ii) de leur contenu en gènes connus ou non dans ces pathologies et, iii) de leur statut hérité ou *de novo*, afin de discuter leur classement en CNV pathogènes ou en CNV de signification indéterminée (VOUS). Pour l'ensemble de la cohorte, un parallèle sera effectué entre le type d'anomalie cérébrale, la présence ou non de CNV et la suite de la grossesse. Ce travail confirme l'intérêt de l'ACPA en période prénatale et précise le taux d'anomalies en fonction de l'anomalie cérébrale dépistée.

P387 : Dépistage des anomalies chromosomiques fœtales par les tests ADNlc : recommandations françaises et internationales.

Auteurs :

pascale Kleinfinger (1), Pascal Chambon (2), Jean-Marc Costa (1), charles Coutton (3), John Boudjarane (4), Tangui-Martin Denavit (5), Jean-Michel Dupont (6), Grégory Egea (7), vincent Gatinois (8), paul Guegen (9), Vincent Jauffret (10), Laurence Lohman (1), valérie Malan (11), Arnaud Molin (12), véronique Petit (13), Haissam Rahil (14), Gilles Renom (15), Damien Sanlaville (16), philippe Vago (17), françois Vialard (18), martine Doco-Fenzy (19)

1. Département de Biologie Spécialisée et de Génétique Humaine, Laboratoire Cerba, Saint ouen l'Aumone, France
2. Génétique, CHU Rouen, rouen, France
3. Génétique, CHU Grenoble, Grenoble, France
4. Génétique, CHU Marseille, Paris, France
5. Génétique, laboratoire Alpigen, Lyon, France
6. cytogénétique, CHU Cochin, Paris, France
7. Génétique, laboratoire Biomnis, Lyon, France
8. Génétique, CHU Montpellier, Montpellier, France
9. Génétique, CHU-Brest, Brest, France
10. Génétique, CHU Rennes, Rennes, France
11. Génétique, CHU Necker, Paris, France
12. Génétique, CHU Caen, Caen, France
13. laboratoire Analysis, laboratoire Analysis, Epinal, France
14. Génétique, laboratoire Labosud-octbiologie, Montpellier, France
15. Génétique, CHU Lille, Lille, France
16. cytogénétique, CHU centre biologie et pathologie Est, Lyon, France
17. Génétique, CHU-Brest, Clermont Ferrand, France
18. Génétique, CHU Versailles, Versailles, France
19. génétique, CHU Reims, Reims, France

Mots clefs : ADN foetal circulant, DPNI, recommandations, dépistage, ADNlc

Résumé :

Après la publication des premières preuves de concept en 2008 par les équipes de Stephen Quake et de Dennis Lo, l'analyse de l'ADN fœtal circulant (ADNlc) en vue du dépistage de la trisomie 21 fœtale est rapidement sortie des laboratoires de recherche pour être transfèrée en diagnostique. Ainsi, dès 2011 cette nouvelle approche est proposée aux USA pour une utilisation en pratique clinique, avant de se propager rapidement en Europe en 2012 puis enfin apparaître en France fin 2013. Le nombre de laboratoires qui proposent des tests ADNlc n'a cessé de croître sur notre territoire depuis cette période et la volonté d'encadrer par des bonnes pratiques cette nouvelle activité est rapidement apparue.
En 2015, l'Association des Cytogénéticiens de Langue Française (ACLF) publie la version 1 de son guide de bonnes pratiques. Ces recommandations sont approuvées par le Collège des Gynécologues et Obstétriciens Français dans un communiqué en juin 2016 alors que et la Haute Autorité de Santé émet un premier avis favorable à l'inscription sur la liste des tests sur ADNlc et prestations du code de la sécurité sociale.
Il faudra néanmoins attendre avril 2017 pour que l'HAS émette des recommandations sur la place des tests ADNlc dans le sang maternel dans le cadre du dépistage de la trisomie 21 fœtale après qu'elle en ait évalué et validé les performances (volet 1 septembre 2015). Le décret du 5 mai 2017 vient enfin officialiser l'utilisation de ces tests comme partie intégrante du parcours de soin et son introduction dans la liste des examens de diagnostic prénatal.
Les récentes recommandations de l'HAS émises à la suite d'une analyse médico-économique ne répondent cependant que partiellement aux questions qui se posent aujourd'hui puisqu'elles ne concernent que la question du dépistage de la seule trisomie 21 pour les seules grossesses singleton. La question du dépistage des autres anomalies chromosomiques et des indications autres que celles des patientes à risque après le dépistage combiné, ne sont donc pas abordées. C'est la raison pour laquelle l'Association des Cytogénéticiens de Langue Française (ACLF) a souhaité ré-actualiser et compléter ses recommandations, hors contexte médico-économique et au vu des évolutions technologiques et réglementaires. Ce document a pour vocation d'être amendé et approuvé par les autres professionnels de santé impliqué dans ce dépistage (cytogénéticien et généticiens moléculaires , gynécologues-obstétriciens et sages-femmes, généticiens médicaux et conseillers en génétique) ce qui constitue un exemple unique au monde.
Un état des lieux et l'analyse comparative de ces recommandations avec celles produites aux USA et dans les autres pays Européens seront exposés. La question des découvertes fortuites qui se pose différemment selon les approches utilisées sera également abordée.

P388 : La microdélétion 1p36 en prénatal : existe-t-il un signe d'appel particulier, est-elle fréquemment identifiée ?

Auteurs :

Sarah Guterman (1), Claire Bénéteau (2), Sylvia Redon (3), Céline Dupont (4), Chantal Missirian (5), Pauline Jaeger (6), Bérénice Herve (7), Nathalie Douet-Guilbert (3), Marianne Till (6), Anne Claude Tabet (4), Cédric Le Caignec (2), Martine Doco Fenzy (8), François Vialard (7)

1. Service de Gynécologie Obstétrique, CHI de Poissy, St Germain, Poissy, France
2. Service de Génétique Médicale, CHU Nantes, Nantes, France
3. Laboratoire de Cytogénétique, Cytologie et Biologie de la Reproduction, CHRU Brest, Brest, France
4. Service de cytogénétique, Hôpital Robert Debré, Paris, France
5. Département de Génétique Médicale, CHU Timone Enfants, Marseille, France
6. Service de génétique, Hospices civils de Lyon, lyon, France
7. Service d'Histologie-Embryologie-Cytogénétique, CHI de Poissy, St Germain, Poissy, France
8. Service de génétique, CHU Reims, Reims, France

Mots clefs : 1p36, prenatal, microdeletion

Résumé :

La microdélétion 1p36 est considérée comme la microdélétion la plus fréquente dans la population générale après la microdélétion 22q11.2. Cette fréquence a été estimée entre 1/5000 à 1/10000. Cette microdélétion est classiquement associée à des anomalies de développement de type cardiaque, cérébrale, faciale, etc… L'objectif de cette étude collaborative, en diagnostic prénatal, est de colliger l'ensemble des microdélétions 1p36 identifiées en France, et ceci du fait de l'implémentation en routine prénatale de l'analyse chromosomique sur puce à ADN (ACPA) qui devrait nous permettre d'identifier les microdélétions, en particulier récurrentes comme la microdélétion 1p36. Un appel à collaboration national a donc été réalisé au sein de l'ACLF auprès de l'ensemble des laboratoires de cytogénétique réalisant l'ACPA en diagnostic prénatal.
Sur l'ensemble des laboratoires de Cytogénétique Français, 6 ont répondu à cet appel. Ceci a permis de colliger au niveau national 8 cas. Le terme moyen du geste invasif était de 19SA+4 (13 à 27SA). La taille de l'anomalie varie entre 2 et 16.5 Mb. Aucune anomalie n'a été identifiée sur caryotype constitutionnel standard. Sur les 6 délétions isolées, une seule est terminale. L'anomalie est associée à une duplication en 17pter (issue d'une translocation réciproque déséquilibrée) pour un cas, à un remaniement complexe du bras court d'un chromosome 1 pour un second.
Le prélèvement invasif a toujours été réalisé suite à l'identification d'un ou plusieurs signe(s) d'appel échographique (SAE). Celui-ci était dans 3 cas une hyperclarté nucale (HCN sup à 3.5mm) associée soit un œdème généralisé soit une cardiopathie soit à une absence de vessie et un rétrognatisme. Ce dernier signe a également été identifié comme isolé ou dans le cadre d'une séquence de Pierre Robin. Une cardiopathie complexe est rapportée dans 2 cas, toujours associée à un autre SAE. Une anomalie cérébrale a été décrite dans 3 cas, isolée uniquement dans un seul cas. Une interruption médicale de la grossesse a été réalisée dans 7 cas sur 8, et le détail de l'autopsie a été obtenu dans 4 cas sur 5, confirmant les SAE.
Au niveau national, peu de cas ont été identifiés de microdélétion 1p36 en anténatal et ceux-ci ont été réalisés dans 6 cas sur 8 après 2014 et l'implémentation en routine de l'ACPA. Même si le nombre de cas rapporté reste faible, cette microdélétion récurrente doit être recherchée de façon systématique en cas de SAE, et ceci confirme le gain important de la réalisation d'une ACPA en anténatal. Si les SAE sont en rapport avec les symptômes identifiés en postnatal à savoir les anomalies cardiaques et cérébrales, et s'il ne semble pas y avoir de signe spécifique de cette microdélétion en période prénatale, dans 5 cas sur 8, il a été identifiée la présence d'une HCN et/ou d'un retrognatisme.

P389 : Effet de l'âge parental sur la survenue de mutations de novo

Auteurs :

Xenia Latypova (1, 2), Marie Vincent (3), Mathilde Nizon (3), Matilde Karakachoff (4), Christian Dina (4), Stéphane Bézieau (1), Bertrand Isidor (3, 5)

1. Service de Génétique Médicale, Unité de Génétique Moléculaire, CHU Nantes, Nantes, France
2. Center for Human Disease Modeling, Duke University, Durham, Etats-Unis
3. Service de Génétique Médicale, Unité de Génétique Clinique, CHU Nantes, Nantes, France
4. l'institut du thorax, INSERM, UMR-1087, Nantes, France
5. Laboratoire de physiopathologie de la résorption osseuse et thérapie des tumeurs osseuses primitives, INSERM, UMR-957, Nantes, France

Mots clefs : âge parental avancé, mutations de novo, pathologie développementale, conseil génétique

Résumé :

Les pathologies du développement concernent 2 à 5 % des naissances. Les mutations *de novo* représentent une cause importante de ces pathologies. L'âge parental avancé est associé à un risque augmenté de mutation *de novo*, plus particulièrement pour l'âge paternel. L'âge parental au moment de la naissance en France est en augmentation depuis plusieurs décades. Nous avons mené une étude chez les patients consultant au sein du service de Génétique Médicale du CHU de Nantes entre 2014 et 2017 pour lesquels une mutation *de novo* a été identifiée. Nous avons recueilli l'âge des deux parents à la naissance chez 194 patients et avons comparé ces informations aux données démographiques disponibles depuis 1901 en Loire-Atlantique. L'âge parental moyen à la naissance des patients porteurs de *mutation de novo* est de 30,76 ans (IC 95 % 30,06-31,45) pour la mère et 34,51 ans (IC 95 % 33,48-35,60) pour le père. Nous discutons du retentissement de l'évolution de ces paramètres sur l'information préconceptionnelle concernant le risque de mutation *de novo* lié à un âge parental avancé et des mesures sociétales facilitant la maternité pour les couples jeunes.

Assises_Age_parental.docx

P390 : Dépistage des trisomies 21, 13 et 18 par analyse de l'ADN fœtal circulant dans le sang maternel en cas de grossesse gémellaire

Auteurs :

Grégoire Le Conte (1), Alexandra Letourneau (1), Jacques Jani (2), Pascale Kleinfinger (3), Laurence Lohmann (4), Jean-Marc Costa (5), Alexandra Benachi (1)

1. Service de gynécologie-obstétrique et médecine de la reproduction, Hopital Antoine Béclère, Clamart, France
2. Service de gynécologie-Obstétrique, Hôpital Brugmann, Bruxelles, Belgique
3. Cytogénétique, Laboratoire Cerba, Saint-Ouen l'Aumone, France
4. Cytogénétique, Laboratoire Cerba, Saint Ouen l'Aumone, France
5. Biologie, Laboratoire Cerba, Saint Ouen l'Aumone, France

Mots clefs : Dépistage prénatal non invasif, ADN foetal libre circulant, grossesse gémellaire

Résumé :

Objectives. To evaluate the utility of noninvasive prenatal testing using cell-free circulating fetal DNA (cfDNA) in screening for the three main autosomal fetal trisomies in twin pregnancies.
Methods. CfDNA testing was offered to 492 patients with twin pregnancies without ultrasound anomalies as a first-line screening test or after serum screening in clinical practice. Data were collected prospectively and a retrospective analysis was performed. CfDNA analysis was performed by massively parallel sequencing. The fetal fraction threshold for test evaluation was 8%. Regression analysis was performed to investigate the effect on the test failure rate of various variables. Performance of the test is also reported.
Results. The test was performed first line (after first-trimester scan) in 377 patients and following serum screening in 115. 78.8% of pregnancies were dichorionic-diamniotic. The test failed at the first attempt in 12 (2.9%) of 420 pregnancies with available outcomes, and regression analysis demonstrated that only maternal weight was a significant independent predictor of test failure. After redraw, a result was achieved in 10 cases. CfDNA identified all 3 cases of trisomy 21, and the only case of trisomy 18. For trisomy 21, the specificity was 99.8% (95% CI [98.7% - 100.0%]). When considering the spontaneous or ART origin of pregnancies, there were no significant differences in terms of maternal weight or of no-result rate for cfDNA screening in the two groups.
Conclusions. In twin pregnancies without fetal ultrasound abnormalities, cfDNA had a high success rate and performance. Therefore, in routine practice, cfDNA could be considered as a first- or second-line screening test.

ADN foetal et jumeaux.doc

P391 : Screening pré-thérapeutique de la toxicité au 5-FU : retour d'expérience après deux ans de routine

Auteurs :

Vanna Geromel (1), Laure Raymond (1), Nicole Couprie (2)

1. Service de génétique et onco-génétique moléculaire, Eurofins-Biomnis, Lyon, France
2. Service de génétique et onco-génétique moléculaire et Chimie analytique, Eurofins-Biomnis, Lyon, France

Mots clefs : Screening, toxicité, 5FU, gène DPYD

Résumé :

Introduction
Le 5-FU est une fluoropirymidine très utilisée dans le traitement des tumeurs solides. Il est connu pour induire des toxicités sévères chez environ 20% à 30% des patients et des toxicités létales chez environ 0,3-2% des patients.
L'enzyme dihydropyrimidine déshydrogenase (DPD) catabolise le 5-FU et est caractérisée par une activité interindividuelle extrêmement variable qui peut s'expliquer en partie par des facteurs génétiques. L'enzyme DPD est codée par le gène *DPYD*. Une multitude de variants ont été identifiés mais peu nombreux sont ceux pour lesquels un effet délétère a été démontré. En particulier quatre variants sont corrélés avec une toxicité due à des chimiothérapies : DPYD*7 (c.295_298delTCAT) dans l'exon 4, DPYD*13 (I560S, c.1679T > G) dans l'exon 13, DPYD*2A (IVS14+1G > A) dans l'intron 14 and D949V (c.2846A > T) dans l'exon 22.
Méthodologie et résultats
Nous avons réalisé le screening pré-thérapeutique du déficit en DPD en septembre 2015 avec une approche multiparamétrique. Le génotypage du gène *DPYD* est réalisé par PCR en temps réel à l'aide de la trousse **DPYD**$^{\text{ODPM Tox™}}$ (ODPM) : les variants cités précédemment sont recherchés. Le catabolisme du 5-FU (rapport UH2/U) est déterminé en quantifiant le dihydrouracile (DHU) et l'uracile (U) dans le plasma du patient par une méthode « maison » en HPLC.
Les résultats du catabolisme du 5-FU, du génotypage et des données cliniques et thérapeutiques tels que l'âge, le sexe, le poids du patient, le protocole de chimiothérapie sont rentrés dans le logiciel **SEu ODPM Tox v3.3.1.5.** Les données sont traitées pour donner l'estimation du risque de toxicité ainsi que la dose adaptée pour le patient. Un suivi du catabolisme du 5-FU pour les patients avec un risque de toxicité avéré peut aussi être réalisé.
Pendant ces deux ans d'activité nous avons analysé plus de 2400 échantillons provenant en particulier de patients atteints de cancer du côlon (40,5%), de cancers rectal (15,3%) ou pancréatique (13,5%). Dans plus de 90% des cas la demande nous est parvenue avant le traitement par 5-FU et dans les 9% restant après une première cure de chimiothérapie suivie d'une toxicité. Dans 10% des cas un risque de toxicité a été calculé. Les variants identifiés le plus fréquemment ont été DPYD*2A and D949V et quasi exclusivement à l'état hétérozygote. Le variant DPYD*7 n'a jamais été retrouvé.
Commentaires et conclusions
La méthode utilisée a permis de mettre en évidence un risque toxique pour des patients porteurs d'un défaut enzymatique lié à un variant du gène *DPYD* et pour des individus présentant un déficit enzymatique uniquement phénotypique. Ces résultats montrent bien l'intérêt de prendre en compte dans la recherche d'une toxicité au 5-FU non seulement le génotype mais aussi le phénotype de la DPD.
Au vu de nos résultats génotypiques et de la littérature, il est envisageable d'ajouter à notre recherche d'autres variants et de revoir l'utilité de la recherche du DPYD*7.

P392 : CFTR et Afrique subsaharienne : la nouvelle mutation p.Cys1410* responsable de mucoviscidose néonatale sévère

Auteurs :

Alix de Becdelièvre (1, 2), Chadia Mekki (1), Véronique Mirlesse (3), Annick Le Floch (1), Elsa Eche (3), Aline Rideau (4), Thierry Bienvenu (5), Emmanuelle Girodon (5), Michèle Gérardin (6), Pascale Fanen (1, 2)

1. Département de Génétique, AP-HP, GH Mondor-A. Chenevier, Créteil, France
2. Inserm, U955, Equipe 5, IMRB, Créteil, France
3. Service d'échographie gynécologique et obstétricale, AP-HP, GH Bichat- C. Bernard, Paris, France
4. Service de néonatologie et réanimation néonatale, AP-HP, Hôpital Robert Debré, Paris, France
5. Laboratoire de génétique et biologie moléculaires, AP-HP, Groupe Universitaire Paris Centre, Hôpital Cochin, Paris, France
6. Université Paris 7, CF centre, AP-HP, Hôpital Robert Debré, Paris, France

Mots clefs : CFTR, mucoviscidose, péritonite méconiale, Afrique

Résumé :

Les kits de recherche de mutations fréquentes du gène *CFTR* sont de plus en plus performants pour le diagnostic de la mucoviscidose, mais restent néanmoins ciblés sur des mutations retrouvées dans les populations caucasiennes, laissant des territoires tels que l'Afrique subsaharienne assez démunis. L'Afrique subsaharienne fait partie des régions avec le taux de mortalité infantile parmi les plus élevés, et la mucoviscidose y est rarement diagnostiquée. Les mutations *CFTR* à rechercher sont peu connues, rendant le diagnostic parfois difficile, particulièrement lorsque la présentation clinique est atypique ou que le test de la sueur ne peut être réalisé. C'est le cas notamment pour les suspicions anténatales de mucoviscidose devant des signes d'appel échographiques

Nous rapportons le cas d'un couple d'origine sénégalaise, consanguin. Leur 1er enfant était décédé le 1er jour de vie dans un contexte de péritonite méconiale. Malgré une analyse fœtopathologique montrant une atteinte digestive compatible avec la mucoviscidose, aucune analyse génétique n'avait été réalisée. Quinze ans plus tard, après 2 grossesses normales, l'échographie du 2ème trimestre de la 4ème grossesse montrait chez le fœtus l'association d'une hyperéchogénicité intestinale, d'une dilatation modérée des anses et d'une absence de visualisation de la vésicule biliaire. L'analyse moléculaire alors réalisée a mis en évidence chez les 2 parents une nouvelle mutation non-sens, c.4230C>A, p.(Cys1410*), à l'état hétérozygote. L'ARNm portant cette mutation échapperait à la dégradation *via* le nonsense-mediated mRNA decay (NMD), et entrainerait la troncation des 70 acides aminés en C-terminal, supprimant ainsi le domaine PDZ de la protéine CFTR, et affectant la maturation de la protéine. Les parents décidèrent de ne pas recourir au diagnostic prénatal. Né avec un iléus méconial, le diagnostic clinique et moléculaire de mucoviscidose a été confirmé après la naissance chez l'enfant, homozygote pour la mutation.

Cette observation (i) illustre la nécessité de réaliser une étude génétique extensive devant la triade échographique (intestin hyperéchogène, dilatation des anses et non visualisation de la vésicule biliaire), (ii) rappelle que le diagnostic de la mucoviscidose doit être considéré chez les patients originaires d'Afrique sub-saharienne et (iii) montre l'importance de la discussion clinico-biologique et du conseil génétique.

P393 : FMR1 : Mutations complètes chez des hommes asymptomatiques

Auteurs :

Laura Guyon (1)

1. génétique clinique, CHU de Nantes, Nantes, France

Mots clefs : X-fragile

Résumé :

Le syndrome de l'X fragile (FXS) est lié à une expansion dynamique de triplets CGG dans la région 5' non codante du gène *FMR1* localisé sur le chromosome X. Les garçons porteurs d'une mutation complète présentent une déficience intellectuelle et des troubles du comportement. Chez les filles, le phénotype est très variable. Nous rapportons ici l'étude de trois grandes familles suivies dans le service de génétique clinique du CHU de Nantes dans lesquelles des hommes avec mutations complètes sont parfaitement asymptomatiques. Cette absence de signes cliniques s'explique par l'hypométhylation du promoteur du gène, contrairement aux garçons atteints pour lesquels cette région est hyperméthylée. L'existence de ces hommes porteurs de mutations complètes passe inaperçu dans ces familles tant que l'analyse génétique n'est pas réalisée chez eux. En effet, on retrouve chez leurs filles des prémutations ou des mosaïques prémutations/mutations complètes. Ce phénomène concerne seulement quelques familles mais pourrait être sous-estimé du fait de l'absence d'analyses génétiques systématiques chez ces hommes asymptomatiques. Néanmoins, à ce jour, aucune étude n'a permis de conclure sur le mécanisme moléculaire permettant d'expliquer cette absence d'hyperméthylation chez les hommes porteurs de plus de 200 triplets CGG. Dans tous les cas, la connaissance de ce mécanisme moléculaire est importante pour le conseil génétique de ces familles. Son identification pourrait également conduire à des avancées thérapeutiques.

Abstract_LGuyon Assises 2018.docx

P394 : Etude de l'errance diagnostique et du parcours médical des patients atteints du Syndrome d'Ehlers Danlos vasculaire (étude REPERE)

Auteurs :

Juliette ALBUISSON (1, 2), Jean-Michael MAZZELLA (2), Salma ADHAM (2), Michael FRANK (2), Khadija LAHLOU-LAFORET (3, 2), Xavier JEUNEMAITRE (1, 2)

1. Département de Génétique, HOPITAL EUROPEEN GEORGES POMIDOU, PARIS, France
2. Centre de Référence des Maladies Vasculaire Rares, HOPITAL EUROPEEN GEORGES POMIDOU, PARIS, France
3. Service de Psychologie et PSychiatrie de Liaison, HOPITAL EUROPEEN GEORGES POMIDOU, PARIS, France

Mots clefs : Maladie vasculaire rare, errance et parcours de vie, insertion professionnelle , impact psychologique de la maladie, questionnaire anonyme en ligne, étude transversale observationnelle

Résumé :

Le syndrome d'Ehlers-Danlos vasculaire (SEDv) est une maladie héréditaire rare et sévère, pouvant entrainer une complication vasculaire ou digestive grave, souvent inaugurale, chez les patients généralement avant 30 ans. Le Centre de Référence des Maladies Vasculaires Rares (CRMVR) de l'HEGP et les 16 Centres de Compétence associés ont diagnostiqué et pris en charge environ 350 patients SEDv au cours des 10 dernières années en France. REPERE est une étude transversale et observationnelle visant à caractériser des facteurs peu connus tels que (i) l'errance diagnostique; (ii) l'impact psychologique du diagnostic et de la maladie sur les patients, (iii) leur parcours scolaire et professionnel, afin de mieux évaluer les difficultés de vie des patients SEDv et d'améliorer leur prise en charge et leur accompagnement en réponse à ces difficultés. Cette étude interdisciplinaire est basée sur l'utilisation d'un questionnaire anonyme de 200 questions via un accès spécifique à notre site internet (www.maladies-vasculaires-rares.fr).
De janvier à septembre 2017, 97 patients ont participé à l'étude, 2/3 de cas-index (n=65) et 1/3 d'apparentés (n=30). La durée médiane d'errance diagnostique est de 6 ans, tous cas confondus, compris entre l'âge médian de la première complication (30 ±14 ans) et du diagnostic définitif (36 ±14 ans). Les patients ont consulté de 1 à 10 médecins spécialistes (moyenne 3.28, médiane 2), et ont recouru 1 à 8 fois à des soins d'urgence pour la moitié d'entre eux (n=47). Des dépenses personnelles ont été engagées chez 17% (n=16), évaluées entre 100 et 300 euros. Selon les patients, ce retard diagnostique a induit des séquelles physiques ou psychologiques dans 1/3 des cas (n=34), une perte de confiance dans la médecine (17%, n=16), ou encore un comportement inadapté de l'entourage (11%, n=10). Chez ¼ d'entre eux (n=25), des diagnostics différentiels ont été proposés (n > 10, dont la maltraitance 16% (n=4), la maladie de Willebrand 12% (n=3), une maladie psychiatrique, d'autres types de SED, …) induisant des traitements médicaux, chirurgicaux et/ou psychiatriques chez 2/3 de ces patients. Dans 15% des cas, le diagnostic définitif a été suggéré en dehors du dépistage familial et de tout contexte médical (média, proche, autre patient).
L'analyse du parcours médical met en lumière les difficultés d'accès des patients au diagnostic définitif, particulièrement les cas-index, y compris lorsque des soins d'urgence sont prodigués. L'errance diagnostique impacte, entre autres, les décisions thérapeutiques, la charge financière supportée par le patient, et constitue une perte de chance sur le plan médical. Ces données suggèrent la nécessité de renforcer l'information et la formation auprès des services d'urgence, de chirurgie viscérale, de pédiatrie, d'hématologie. La prise en charge globale des patients et de leurs proches lors du diagnostic définitif, doit être renforcée du fait d'une perte de confiance liée à ces difficultés de parcours.

P395 : Evaluation du rôle des gènes SAA1, SAA2 et SAA4 dans la survenue d'une amylose AA

Auteurs :

Claire Jumeau (1), Camille Louvrier (1, 2), Eman Assrawi (1), Fawaz Awad (1), Laetitia Cobret (1), Sophie Georgin-Lavialle (1, 3), Cécile Cazorla (4), Philippe Duquesnoy (1), Jean-Simon Rech (4), William Piterboth (2), Florence Dastot-Le Moal (2), Bruno Copin (2), David Buob (5), Gilles Grateau (1, 3), Jean-François Bernaudin (1, 6), Marie Legendre (1, 2), Sonia-Athina Karabina (1), Irina Giurgea (1, 2), Serge Amselem (1, 2)

1. Sorbonne Universités, UMRS_933 Inserm/UPMC Univ Paris 06, DHU I2B, Hôpital Trousseau, Paris, France
2. Département de génétique (Assistance Publique -Hôpitaux de Paris), DHU I2B, Hôpital Trousseau, Paris, France
3. Centre de référence de la fièvre méditerranéenne familiale, DHU I2B, Service de médecine interne (Assistance Publique - Hôpitaux de Paris), Hôpital Tenon, Paris, France
4. Service de médecine interne et infectiologie, CHT Nouméa, Nouméa, France
5. Service d'anatomie et cytologie pathologiques (Assistance Publique -Hôpitaux de Paris), Hôpital Tenon, Paris, France
6. Service de pneumologie (Assistance Publique -Hôpitaux de Paris), Hôpital Avicenne, Bobigny, France

Mots clefs : variants moléculaires, SAA, amylose AA,

Résumé :

Contexte : L'amylose AA est une des complications possibles de l'inflammation chronique secondaire à différentes affections, également rencontrée chez le sujet obèse. Cette affection multifactorielle est caractérisée par le dépôt d'agrégats de protéines amyloïdes A (AA) au sein des organes atteints. Les cas d'amyloses AA sans étiologie identifiée sont rares. Les protéines AA sont issues du clivage des protéines serum amyloid A (SAA1, SAA2, SAA4) codées par les gènes correspondants. Notre équipe a identifié *SAA1* comme un gène modificateur du phénotype de la fièvre méditerranéenne familiale (FMF) qui est une des plus fréquentes maladies auto-inflammatoires : un génotype particulier au locus *SAA1* (homozygote pour l'haplotype *SAA1.1*) est en effet associé à un risque élevé de développer une amylose rénale chez les patients FMF (OR=7 dans la population arménienne de patients). Par ailleurs, un autre génotype (*SAA1.3/SAA1.3*) en déséquilibre de liaison avec le variant c.-184-13C > T du gène *SAA1* a été associé à un risque élevé de survenue d'amylose AA, initialement chez des patients japonais atteints de polyarthrite rhumatoïde.
Objectifs : i) Rechercher des variations des gènes *SAA1*, *SAA2* ou *SAA4* pouvant être à l'origine d'une amylose AA. ii) Déterminer la distribution génotypique des différents haplotypes au locus *SAA1* chez 3 groupes de patients : patients avec amylose AA isolée, ou associée à une obésité ou à une goutte.
Méthodes : *SAA1*, *SAA2* et *SAA4* ont été étudiés par séquençage Sanger et l'haplotype au locus *SAA1* a été déterminé chez 37 individus indépendants : 14 patients avec amylose AA isolée, 13 patients avec amylose AA associée à une obésité (patients d'origine européenne ou maghrébine) et 10 patients avec amylose AA associée à une goutte (originaires de Mélanésie ou de Polynésie).
Résultats : Deux variants hétérozygotes rares des gènes *SAA* ont été identifiés chez 2 patients avec amylose AA isolée: p.(Ala79Val) (SAA2) et p.(Asp34Val) (SAA4). Parmi les 14 patients avec amylose AA isolée, 12 sont porteurs du génotype *SAA1.1/SAA1.1*. Parmi les 13 patients obèses, 10 présentent le génotype *SAA1.1/SAA1.1*. Enfin, 5 des patients atteints d'amylose AA associée à une goutte présentent le génotype *SAA1.3/SAA1.3* associé au variant c.-184-13C > T à l'état homozygote.
Conclusion : Les 2 variations faux-sens identifiées dans les gènes *SAA2* et *SAA4* concernent des acides aminés conservés ; des études fonctionnelles sont en cours pour statuer sur leur caractère bénin ou pathogène. Les résultats de l'analyse des haplotypes au locus *SAA1* sont en faveur du rôle important du génotype *SAA1.1/SAA1.1* dans la survenue d'une amylose AA isolée ou associée à une obésité chez les patients d'origine européenne ou maghrébine. Une extension de la cohorte de patients atteints d'amylose AA est en cours afin de confirmer ces résultats et d'évaluer le rôle des gènes *SAA* dans la survenue d'une amylose AA secondaire à une goutte chez les patients originaires de Mélanésie/Polynésie.

résumé Assises 2018 amylose AA C. Jumeau.docx

P396 : L'apport du peignage moléculaire pour révéler la variabilité génétique et la complexité du diagnostic moléculaire dans la dystrophie Facio-Scapulo Humérale.

Auteurs :

karine Nguyen (1, 2), Natacha Broucqsault (3), Stéphane Roche (2), Francesca Puppo (2), Charlene Chaix (1), Catherine Vovan (1), Camille Dion (3), Emmanuelle Salort Campana (4, 2), Shahram Attarian (4, 2), Marc Bartoli (2), Rafaelle Bernard (1, 2), Nicolas Levy (2, 1), Frederique Magdinier (3)

1. Département de génétique Médicale, Hôpital des enfants de la Timone, APHM, Marseille, France
2. Laboratoire INSERM UMRS_910, génétique Médicale et Génomique Fonctionnelle, INSERM-AMU, Marseille, France
3. GMGF INSERM UMRS_910, , Marseille, France
4. Centre de référence pour les maladies neuromusculaires et la SLA, APHM, Marseille, France

Mots clefs : Dystrophie Facio Scapulo Humérale, Peignage moléculaire, ADN répété, D4Z4 Macrosatellite, Subtélomère, Méthylation de l'ADN, Epigénétique, SMCHD1, Réarrangements complexes, Maladie neuromusculaire,

Résumé :

La dystrophie Facio Scapulo Humérale (FSHD) est la troisième dystrophie neuromusculaire par ordre de fréquence. Cette maladie autosomale dominante est liée au locus subtélomérique 4q35 et est associée à différents variants génétiques de régions non codantes. Dans 95% des cas, une réduction du nombre d'unités du macrosatellite D4Z4 sur un allèle de type qA a été associé à la FSHD. La perte de ces éléments d'ADN répété est associée à une baisse de la méthylation de l'ADN. Pour 5% des patients, la réduction du nombre de D4Z4 n'est pas observée (FSHD2). Une large proportion de patients FSHD2 présente cependant une baisse de la méthylation de D4Z4 associée dans certains cas à une mutation du gène *SMCHD1*.
Dans la plupart des laboratoires, le diagnostic moléculaire est réalisé par la technique de Southern blot qui permet de déterminer le nombre d'unités répétées D4Z4. Toutefois, cette technique ne permet pas toujours de conclure, soit en raison de limitations techniques soit raison de l'existence de variants complexes. Afin de contourner cette difficulté, nous avons développé une approche diagnostique alternative basée sur la technique de peignage moléculaire (Nguyen et al., 2010). Grâce à cette méthodologie hautement résolutive, nous avons exploré 895 individus pour diagnostic de confirmation ou d'exclusion de la FSH. Dans 9% des cas, nous avons identifié l'existence de nouveaux remaniements complexes de la région 4q35 liée à la maladie ou de la région 10q26 homologue à 98%. Chez ces patients, nous avons systématiquement analysé les variants génomiques associés par la FSHD (allèles subtélomériques qA ou qB), la méthylation de l'ADN de D4Z4 et recherché des mutations du gène SMCHD1. Nos résultats qu'il n'y a pas de corrélation systématique entre variation de SMCHD1, hypométhylation de D4Z4 et présence des signes cliniques de la maladie et chez certains patients, ces remaniements complexes sont les seules anomalies associées à la pathologie. L'ensemble de ces résultats soulève donc de nombreuses questions sur le diagnostic moléculaire et le conseil génétique en particulier dans le cadre de la FSHD2.

Abstract Assises Magdinier.docx

P397 : Etude épidémiologique des variants de l'ARNsn U4atac responsables du syndrome de Taybi-Linder et du syndrome de Roifman

Auteurs :

Clara Benoit-Pilven (1, 2), Alicia Besson (1), Audric Cologne (1, 2), Claire Benetollo (3), Audrey Putoux (1, 4), Vincent Lacroix (2), Sylvie Mazoyer (1), Anne-Louise Leutenegger (5), Patrick Edery (1, 4)

1. Equipe GENDEV, Centre de Recherche en Neurosciences de Lyon, Inserm U1028 CNRS UMR5292, Lyon, France
2. Equipe Baobab, CNRS UMR 5558, Laboratoire de Biométrie et Biologie Évolutive, Lyon, France
3. NGFO, Centre de Recherche en Neurosciences de Lyon, Inserm U1028 CNRS UMR5292, Lyon, France
4. Service de Génétique, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
5. Variabilité Génétique et Maladies Humaines, Inserm-Université Paris Diderot UMR 946, Paris, France

Mots clefs : Taybi-Linder, nanisme microcéphalique, épissage mineur, RNU4atac, splicéosome, prédiction bioinformatique, modèle cellulaire, Hardy-Weinberg, fréquence génique

Résumé :

L'épissage est réalisé dans le noyau par le splicéosome, un complexe ribonucléoprotéique constitué de cinq petits ARN nucléaires (appelés ARNsn pour « small nuclear RNA ») et d'une centaine de protéines. Chez certains eucaryotes, dont l'Homme, deux types de splicéosomes co-existent: le splicéosome majeur comprend les ARNsn U1, U2, U4, U5 et U6 et épisse plus de 99 % des introns du génome (dits U2) et le splicéosome mineur comprend les ARNsn U11, U12, U4atac, U5 et U6atac et épisse environ 850 introns (dits U12).
En 2011, nous avons montré que des variants pathogènes bialléliques de *RNU4ATAC* sont responsables du nanisme primordial ostéodysplasique microcéphalique ou syndrome de Taybi-Linder (TALS), démontrant pour la première fois le rôle de l'ARNsn U4atac et de l'épissage mineur dans le développement embryonnaire précoce et la survie post-natale. En 2015, un déficit immunitaire primaire rare, moins sévère, le syndrome de Roifman (RFMN), a été associé à des variants hétérozygotes composites de *RNU4ATAC*. Les variants identifiés chez la soixantaine de patients TALS ou RFMN rapportés à ce jour dans le monde se concentrent dans des domaines particuliers d'U4atac, différents selon le syndrome.
Dans ce travail, nous avons d'abord répertorié un total de 273 variants de *RNU4ATAC* (230 substitutions, 19 insertions, 7 délétions et 17 duplications) dans la base de données Genome Aggregation Database (GnomAD) parmi 15 000 séquençages d'exomes ou de génomes entiers. Cent vingt des 131 nucléotides d'U4atac sont touchés par au moins une substitution. Seuls 5 variants ont une fréquence allélique > 0,1%, la fréquence la plus élevée étant 0,28%.
Nous avons ensuite établi un modèle de prédiction de la pathogénicité des variants de *RNU4ATAC* en combinant un modèle cellulaire mesurant l'efficacité d'épissage en présence de versions mutées vs sauvages de *RNU4ATAC* et une approche bioinformatique multiparamètres. Notre approche bioinformatique permet d'établir un score de prédiction de pathogénicité d'après (i) la conformation bidimensionnelle de la bimolécule U4atac/U6atac, dont certaines régions sont importantes pour la fixation de facteurs protéiques critiques pour l'épissage (RNAstructure), (ii) l'importance fonctionnelle de la région considérée ainsi que (iii) la conservation nucléotidique. Parallèlement, notre modèle cellulaire a permis de montrer une réduction d'efficacité d'épissage pour tous les variants de *RNU4ATAC* testés associés au TALS/RFMN (n = 5). Nous allons maintenant tester des variants prédits comme pathogènes par l'approche bioinformatique seulement afin de confirmer, d'après l'équilibre de Hardi-Weinberg, que certains variants pathogènes de *RNU4ATAC* de fréquence allélique comparable à celle de la mutation récurrente g.51G > A (n = 4) sont vraisemblablement associés à des pathologies non encore reconnues à ce jour.

P398 : Utilisation de l'ACPA de type SNP hautement résolutive en diagnostic prénatal : Une série de 238 fœtus

Auteurs :

Leila QEBIBO (1), Solveig HEIDE (2), Myrtille SPENTCHIAN (2), Elodie SCHAERER (2), Céline BORDET (2), Cécile PRUDHOMME (3), Isabelle MAREY (2), Sandra Whalen (3), Aurélia JACQUETTE (2), Damien HAYE (2), Marie-Lorraine MONIN (2), Marie-Amélie ROCCHISANI (2), Nicole JOYE (1), Danièle VAUTHIER-BROUZES (4), Marc DOMMERGUES (4), Odile PHILIPPON (4), Jean-Marie JOUANNIC (5), Anne-Marie DARRAS (5), Carole CACHEUX (5), Marie LE MEUR (5), Claude VIBERT-GUIGUE (6), Frédéric RICHARD (7), Jacky NIZARD (4), Isabelle MELONIO (4), Stéphanie FRISZER (5), Sophie DELAHAYE (5), Anne-Florence ALIX (5), Sophie HOURRIER (8), Julie AKLE (8), Julie GREVOULFESQUET (8), Fatiha GUENNAS (5), Anaïs BEKMEZIAN (9), Thierry HARVEY (9), Ferdinand DHOMBRES (5), Emeline MAISONNEUVE (5), Aurore TRABBIA (10), Samia SOLTANE (11), Catherine ALLOUCHE (5), Marie-Laure MOUTARD (12), Thierry BILLETTE DE VILLEMEUR (12), Catherine GAREL (5), Françoise LANGLET (1), Fabienne RAJHONSON (1), Isabelle PINSON (1), Corinne MACH (13), Aurélie LAFFITTE (13), Elodie LEJEUNE (13), Boris Keren (13), Sandra CHANTOT-BASTARAUD (1), Delphine HERON (2), Jean-Pierre SIFFROI (1), Capucine HYON (1)

1. Département de génétique médicale, APHP, Hôpital Armand-Trousseau , 75012, France
2. UF de génétique clinique, APHP, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, 75013, France
3. UF de Génétique Clinique, CRMR anomalies du développement et syndromes malformatifs, APHP, Hôpital Armand-Trousseau , 75012, France
4. Service de Gynécologie Obstétrique, APHP, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, 75013, France
5. Service de Gynécologie Obstétrique, APHP, Hôpital Armand-Trousseau , 75012, France
6. Service de Gynécologie Obstétrique, APHP, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, 75012, France
7. Service de Gynécologie Obstétrique et Médecine de la reproduction, APHP, Hôpital Tenon, 75020, France
8. Service de Gynécologie Obstétrique, Centre Hospitalier Sud Francilien, Corbeil-Essones, France
9. Maternité, Groupe Hospitalier Diaconesses Croix Saint Simon, Paris, France
10. Maternité, Hôpitaux de Saint-Maurice, Saint Maurice, France
11. Service de Gynécologie Obstétrique, Centre Hospitalier Intercommunal de Villeneuve Saint Georges, Villeneuve Saint Georges, France
12. Service de neuropédiatrie, APHP, Hôpital Armand-Trousseau , 75012, France
13. Centre de génétique moléculaire et chromosomique, UF de génomique du développement, APHP, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, 75013, France

Mots clefs : ACPA, SNP-array, Prénatal, Conseil génétique

Résumé :

L'analyse chromosomique sur puce à ADN (ACPA) est largement utilisée en diagnostic prénatal en France. Cependant il n'existe pas de consensus concernant les indications de sa réalisation, le type de puce utilisée, le degré de résolution, le type de CNVs (Copy Number Variations) à rapporter et leurs interprétations.
Nous avons débuté l'ACPA en juillet 2013 et avons fait le choix d'utiliser des puces résolutives identiques à celles utilisées en diagnostic postnatal (résolution théorique voisine de 50 kb) : CytoSNP12 (Illumina®) (SNP-Array) et Agilent 180K (CGH-array) jusqu'en juillet 2015, puis uniquement des SNP-array, (OmniExpress24 (Illumina®) et Cytoscan 750K (Affymetrix®), en réalisant une technique en trio (fœtus-parents) et en ne rapportant pas les CNVs hérités et les CNVs correspondant à des régions de susceptibilité (liste prédéfinie). Ces puces SNP permettent la détection de variations de nombre de copie comme la CGH array mais également la détection des déséquilibres alléliques autorisant ainsi l'identification de triploïdie, de mosaïque faible, de régions d'homozygotie indicatrices soit d'une consanguinité soit d'une Disomie UniParentale (DUP). Cette technique permet ainsi d'identifier les contaminations maternelles. L'évaluation de l'apport de l'ACPA dans la prise en charge de patientes suivies dans le Centre Pluridisciplinaire de Diagnostic Prénatal de l'Est Parisien, et dont le fœtus présente des anomalies échographiques de pronostic incertain, est rapportée dans un autre travail complémentaire à celui que nous présentons ici. (Poster Myrtille Spentchian).
Une SNP-array a été réalisée chez 231 fœtus présentant des signes d'appel échographiques pour lesquels le caryotype fœtal était réalisé dans le même temps. Nous avons identifié ou caractérisé 8 CNVs pathologiques (3,4%), 3 DUP maternelles homogènes (DUP2, DUP16, DUP15)(1.2 %), 2 trisomies en mosaïque faible associée à une DUP maternelle (DUP8 et DUP22) (0.9%). De plus, 7 fœtus ont bénéficié d'une analyse en SNP-array à la recherche d'une DUP dans un contexte d'anomalie chromosomique parentale ou fœtale favorisant leur survenue (2.9 % des indications). Cette recherche s'est avérée négative pour chacun d'eux. Nous confirmons que l'utilisation de la SNP-array en trio en diagnostic prénatal permet d'étendre le champ diagnostic chez les fœtus présentant des anomalies échographiques sans augmenter la détection du nombre de VOUS (Variant of unknown significance) et autorise un meilleur conseil génétique auprès des familles.

SNP_DPN_AG2018.docx

P399 : Maladies rares et projet parental à 1, à 2 ou à 3 parent(e)s ? Les révolutions coperniciennes induites par les progrès techniques en génétique

Auteurs :

karine brehaux (1)

1. éthique, chu de reims, reims, France

Mots clefs : maladie rare-projet parental-éthique-génétique

Résumé :

L'argument techniciste, devient le levier permettant la ré-interprétation d'un projet parental provoqué par la dissociation sexualité/procréation, la révision du droit à la filiation (définition de la notion de couple : hétérosexuel établi depuis 2 ans, homosexuelle féminin ou d'une femme seule, la reconnaissance par adoption d'un enfant conçu par GPA), la refonte des lois bioéthiques.
Dans son avis sur les demandes sociétales de recours à l'aide médicale à la procréation, le CCNE ouvre la technique de la PMA aux couples de femmes et aux femmes seules souhaitant procréer sans partenaire masculin (intentionnalité) grâce au don de sperme (moyen), s'inscrivant dans l'application du mariage pour tous (reconnaissance de couples homosexuels féminins) et dans l'externalisation assumée de l'acte de reproduction sexuelle via le recours à un père tiers anonyme en vue de la réalisation d'un projet parental (finalité). Cet avis du CCNE impactera aussi les patients avec maladies rares et leur famille. L'intervention du tiers, acteur technique (généticien) ou donneur (don de sperme, d'ovocyte et de cytoplasme/mitochondries) est primordial car acteur de régulation de dysfonctionnement pathologique prévisible et mortel sur un embryon ou de maintien de la jeunesse du patrimoine ovocytaire féminin.
Le débat sociétal pose en filigranes des questions de genre et de parité, mais aussi de droits relatifs aux droits et à l'intérêt de l'enfant, des risques de dérives sur le marché du travail pour les femmes, des tensions entre les désirs individuels et les contraintes du collectif.
La femme dispose de son corps en ce sens où elle est libre d'assumer ou pas le choix de la maternité (finalité), d'être l'investigatrice du projet parental (autonomie totale sur sa fonction biologique), à nuancer avec l'argument financier (coût de l'accès aux dons de gamètes et d'ovocytes pour la femme ou la société civile ?). Des progrès génétiques comme le système CRISPR/Cas9 rend possible de réparer ou d'introduire des séquences exogènes d'ADN en tout point du génome avec une précision parfaite réinterrogeant nos cadres éthiques. Appliqués aux cellules germinales ou embryonnaires pour certaines maladies rares ils pourraient permettre dans le futur, de modifier le génome de façon transmissible aux générations suivantes, d'éviter l'implantation d'un embryon atteint d'une pathologie incurable. Serait à (re) définir en parallèle les droits de l'embryon représentés par la mère ayant un recours possible à cette technique, les droits du fœtus (sujet d'un projet parental de personnes bien portantes ou d'un couple dont l'un des deux est porteur d'une maladie rare). Si bien que l'on peut se demander si la définition de la Personne Potentiellement Humaine du CCNE de 1991 est toujours d'actualité ?

assises de génétique 2018 KBrehaux09102017.pdf

P400 : Diagnostic prénatal d'hémimégaencéphalie sur Sclérose Tubéreuse de Bourneville

Auteurs :

Shaam BRUET (1), Marie BIARD (2), Carole GOUMY (3), Hélène LAURICHESSE (4), Renaud TOURAINE (5), Christine FRANCANNET (1)

1. génétique médicale, CHU Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, France
2. radiologie pédiatrique, CHU Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, France
3. cytogénétique, CHU Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, France
4. diagnostique anténatal, CHU Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, France
5. génétique moléculaire, CHU hopital Nord, St-Etienne, France

Mots clefs : Tuberous sclerosis complex, TSC1, TSC2, Hemimegalencephaly, Intra uterine MRI, cardiac rhabdomyoma, prenatal diagnosis

Résumé :

Tuberous sclerosis complex (TSC) is an autosomal dominant syndrome characterized by the development of hamartias and hamartomas, frequently involving the central nervous system. Genetic testing for mutations of the two genes TSC1 or TSC2 confirm the diagnosis in 85% of cases.
Hemimegalencephaly (HME) is a rare developmental brain malformation characterized by hamartomatous enlargement of a cerebral hemisphere. It can occur isolated or in association with neurocutaneous syndromes like TSC. In some cases, HME can be caused by a somatic mutation within the PI3K-AKT-MTOR pathway
We describe the first pregnancy of a healthy and non-consanguineous couple. There were no other cases of TSC in the family. Ultrasound (US) at 23 weeks of gestation found signs of brain anomaly with macrosomic features, cranial deformity as well as an enlarged unilateral left cerebral hemisphere with abnormal gyration, abnormal operculization of the sylvian fissure and left ventriculomegaly consistent with hemimegaencephaly. The US also found a cardiac septal hyperechogenic nodule resembling a rhabdomyosarcoma as well as polyhydramnios.
Amniocentesis was performed at 23 weeks of gestation. Karyotype was 46, XY and did not reveal any anomaly. Array CGH did not detect any anomaly. We performed NGS sequencing of two genes TSC1 and TSC2 and found a heterozygous mutation in the TSC2 gene on the 9th exon: c.935_936delTC (p.L312QfsX25) consistent with tuberous sclerosis. This mutation was found to be de novo as both parents do not carry the mutation.
Intra uterine MRI was performed at the age of 25 weeks showing marked enlargement of the left cerebral hemisphere, abnormal signal intensity of the left hemisphere, pachygyria (thick cortex, broad gyri and shallow sulci), poor gray-white differentiation and displacement of the midline structures toward the normal right hemisphere. Left ventricle was dysmorphic but not dilated. Calvarial asymmetry was noted.
No sign of cortical tuber or subependymal nodule was identified in the right hemisphere.

Medical termination of pregnancy was performed at 27 weeks.
An autopsy was performed and revealed a hypertelorism, dolichocephalic skull and hypoplasia of the posterior fossa. A macroscopic study of the brain revealed left hemimegaencephaly with a lissencephaly aspect. The cardiac tissue did not reveal the presence of cardiac rhabdomyoma. Skin tissue did not show any signs of cutaneous lesions and kidneys did not show any abnormalities.

The association between TSC and HME has been reported in eleven cases, all postnatal. To our knowledge, we report the first case in literature of a diagnosis of HME with STC in utero. Our patient only presented one key clinical criteria for TSC diagnostic, cardiac rhabdomyoma. Our finding suggests that HME should be considered as clinical diagnosis criteria for TSC to enable early diagnosis and provide optimal parental counseling.

résumé poster Nantes (1).doc

P401 : RASopathie et morts fœtales/périnatales : projet RASofoet

Auteurs :

Yline CAPRI (1), Fabien GUIMIOT (2, 3), Cédric VIGNAL (1), Suonavy SAVATOVSKY-KHUNG (2), Tania ATTIE-BITACH (4, 5), Bettina BESSIERES (6), Maryse BONNIERE (6), Jelena MARTINOVIC (7), Martine BUCOURT (8), Pascaline LETARD (9), Laurence LOEUILLET (10), Marie GONZALES (6), Camille AUPIAIS (11), Nathalie POUVREAU (1), Alain VERLOES (1, 3), Hélène CAVE (1, 12)

1. Département de Génétique, APHP-CHU Robert Debré, Paris, France
2. Service de foetopathologie, APHP-CHU Robert Debré, Paris, France
3. INSERM U1141, CHU Robert Debré, Paris, France
4. Laboratoire de Génétique moléculaire, APHP-CHU Necker, Paris, France
5. INSERM U1163, Institut Imagine, Paris, France
6. Unité de foetopathologie, APHP-CHU Necker, Paris, France
7. Unité de foetopathologie, APHP-CHU Antoine Béclère, Paris, France
8. Service d'anatomie et cytologie pathologique, APHP-CHU Jean Verdier, Paris, France
9. Unité de foetopathologie, APHP-CHU Jean Verdier, Paris, France
10. Service d'anatomie et cytologie pathologique, APHP-CHU Cochin, Paris, France
11. Service de santé publique, APHP-CHU Robert Debré, Paris, France
12. INSERM UMR1131, Institut Universitaire d'hématologie, Paris, France

Mots clefs : Rasopathie, Syndrome de Noonan, NGS

Résumé :

En France le taux de mortalité périnatale est de 11,4 enfants pour 1000 naissances vivantes et comprend la mortinatalité (enfant né sans vie, mort fœtal *in utero* (MFIU) et interruptions médicales de grossesse (IMG) après 22SA)(8,9/1000) et la mortalité néonatale (enfants nés vivants et décédés avant J28) (2,5/1000). Un grand nombre de décès périnataux restent sans diagnostic mais dans certains cas, la présence d'une ou plusieurs malformations (clarté nucale pathologique, chylothorax, anasarque, cardiopathie/cardiomyopathie, dysmorphie…) peut orienter vers une RASopathie.
Les RASopathies (Syndrome de Noonan et apparentés) sont des pathologies du développement causées par la mutation d'un acteur de la voie de signalisation RAS-MAPK. Certains patients présentent une forme sévère conduisant à une MFIU, une IMG ou un décès néonatal. L'étude RASofoet a été lancée afin de déterminer l'impact des RASopathies dans la mort fœtale/périnatale afin de mieux comprendre les causes du décès précoce des *sujets* atteints. Nous présentons les résultats à 18 mois de son ouverture.
Deux groupes de patients ont été étudiés 1) l'ensemble des cas de MFIU/IMG ou décès néonataux reçus pour diagnostic de RASopathie entre janvier 2013 et juillet 2017 et 2) les cas inclus dans l'étude RASofoet entre janvier 2016 et juillet 2017 visant à recruter de façon systématique dans les 6 centres de l'APHP les *sujets* (fœtus/enfants décédés) présentant au moins un signe évocateur sus-cité.
La région codante complète des 18 gènes impliqués dans les RASopathies a été séquencée par NGS chez chaque *sujet*.
Dans le groupe 1, 52 *sujets* ont été adressés pour suspicion de RASopathie devant des signes échographiques, des données d'autopsie ou des signes cliniques évocateurs et 33 (63,5%) s'avèrent porteurs d'une mutation pathogène (20 *PTPN11*, 5 *RAF1*, 5 *RIT1*, 1 *HRAS*, 1 *SOS1* et 1 *NF1*). Ce taux de mutation élevé révèle la bonne reconnaissance des symptômes précoces de RASopathie par les cliniciens. Dans le groupe 2, 29 *sujets* ont été inclus et 4 (14,3%) mutations ont été identifiés (*PTPN11, RAF1, RIT1* et *BRAF*).
Parmi les 37 *sujets* ayant une mutation de l'un des gènes de RASopathies, la cause du décès est connue chez 8/11 enfants (3 anasarques, 2 pneumothorax compressifs, 3 atteintes cardiologiques létales) et 3/8 MFIU (3 anasarques). Parmi les 18 IMG, 12 présentaient une clarté nucale pathologique, 7 une cardiopathie/cardiomyopathie et 5 des épanchements des séreuses (ces signes pouvant être associés entre eux et à d'autres malformations). 9/37 *sujets* portaient une mutation héritée de l'un des parents (4 enfants, 3 IMG et 2 MFIU) suggérant que la mutation n'explique pas à elle seule la gravité du tableau clinique.
L'inclusion d'un nombre supérieur de cas nous permettra d'établir des relations phénotype/génotype et de déterminer dans quelle mesure l'épidémiologie moléculaire de ces cas particulièrement sévères se distingue de celle de la population d'enfants atteints d'une forme classique de RASopathie.

P402 : Deciphering Mediator's function and structure in mammalian cells

Auteurs :

Laïla Allach El Khattabi (1), Laïla Allach El Khattabi (2), Jens Kalchschmidt (3), Philippe Kieffer-Kwon (3), Jordan Krebs (4), Seol Kyoung Jung (3), Natalie Young (5), Kyong-Rim Kieffer-Kwon (4), Daniel Chauss (4), Subash Tripashi (3), Nathanael Pruett (4), Francisco Asturias (3), Rafael Casellas (4)

1. Cytogénétique, APHP-HUPC-Cochin, Paris, France
2. Cytogénétique, INSERM U1016, APHP-HUPC-Cochin, Université Paris Descartes, Paris, France
3. Lymphocyte Nuclear Biology, NIH, Bethesda, Etats-Unis
4. Lymphocyte Nuclear Biology, NIH, bethesda, Etats-Unis
5. Biochemistry and Molecular Genetics, University of Colorado Anschutz Medical Campus, Aurora, Etats-Unis

Mots clefs : Mediator, PolII transcription, Chromatin architecture

Résumé :

Mediator is a large multi-subunit complex that is organized into four modules (head, middle, tail and kinase module). Previous work showed that this complex is involved in several steps of class II gene transcription (PolII recruitment, pausing, elongation and splicing) and enhancer-promoter (E-P) interactions via DNA looping. Mutations in this important complex are associated with cancer and developmental diseases. However, Mediator's function and structure have been mainly studied in yeast. Few is known about the mammalian Mediator complex, but earlier studies suggest significant differences in its composition and structure, especially for the tail module. The chromatin architecture between yeast and mammalian cells is different, particularly E-P interactions, which is why a comprehensive study of mammalian Mediator is required.
We screened for non-essential Mediator subunits (SU), in the murine B-lymphoma cell line CH12, using CRISPR-Cas9 technology, and generated knockout clones (KO) whenever possible. Furthermore, we Flag-tagged Med19 to perform cryo-EM studies of the complex after pull down. We analyzed the impact of these KOs on gene expression, PolII and Mediator recruitment at promoter and regulatory elements and on chromatin structure. We show that depletion of non-essential SUs induced transcriptional changes only in a subset of genes. Deletions of the five tail SUs are all viable, but destabilize the tail structure and affect the expression of a common set of genes. We also generated a viable tailless clone that lacks all five tail SUs in order to investigate the role of the tail module in the modulation of PolII mediated transcription and E-P interactions. On the other hand, using a SMASh-tag technique, we created a conditional KO of the essential backbone SU Med14 and show that depletion in Med14 results in global transcriptional down-regulation associated with a decrease in PolII recruitment.
Our study provides new insights into mammalian Mediator structure and a comprehensive view on how Mediator and the tail module are involved in transcription. This data is essential for a better understanding of transcriptional regulation and mediator related diseases.

P403 : Trois retours d'expérience de DPNI pour maladies monogéniques

Auteurs :

Laetitia Monteil (1), Juliette Nectoux (2), Mathilde Pacault (2), Christelle Garnier (1)

1. Génétique médicale , Hôpital Purpan, CHU Toulouse , Toulouse, France
2. Génétique et Biologie Moléculaires, HUPC Hôpital Cochin , Paris, France

Mots clefs : DPNI, conseil génétique, mucoviscidose, neurofibromatose type 1

Résumé :

L'étude d'ADN fœtal circulant à partir de sang maternel est actuellement largement prescrite pour le dépistage de la trisomie 21 chez la femme enceinte, permettant ainsi de limiter les prélèvements invasifs et le risque associé de fausse-couche.
De façon plus large, le diagnostic prénatal non invasif (DPNI) est utilisé depuis longtemps pour la détermination du sexe fœtal via la détection de séquences issues du chromosome Y dans le cas de maladie génétique liée au chromosome X ou pour le génotypage du Rhésus D fœtal afin de prévenir le risque d'allo-immunisation materno-fœtale. Après évaluation par la Haute Autorité de Santé française, ces techniques sont maintenant proposées en routine dans les laboratoires agréés, et sont prises en charge par la Caisse Nationale d'Assurance Maladie.
Depuis peu, de nouvelles indications de DPNI voient le jour, tel que le diagnostic d'exclusion de la mutation paternelle dans le cas des maladies monogéniques. Nous n'y trouvons que peu d'inconvénient mais restons conscients des enjeux éthiques et de l'importance d'encadrer les prescriptions des précautions réglementaires habituelles et de l'information adaptée et complète comprenant la nature et les limites de ces examens.
Nous rapportons ici trois situations de mise en œuvre d'un DPNI par PCR digitale (deux cas pour un risque de 25 % de mucoviscidose et un cas pour un risque de 50 % de Neurofibromatose de type 1) pour lesquels le résultat s'est avéré rassurant conduisant à annuler le prélèvement fœtal invasif à type de biopsie de villosités choriales. Nous présentons le parcours de chaque couple conduisant à ce DPNI ainsi que leurs réflexions personnelles et leur vécu. Nous nous questionnons sur les enjeux éthiques et psychologiques spécifiques à la mise en œuvre d'un DPNI dans ces situations particulières de maladies monogéniques mais nous constatons aussi des similitudes avec le parcours de diagnostic prénatal « classique ».

P404 : Implication des régions chromosomiques 5q13, 12q24 et 18q21 dans la susceptibilité aux maladies auto immune thyroïdiennes au sein d'une famille multiplexe d'origine Tunisienne

Auteurs :

Ghazi Chabchoub (1), Ahmed Rebai (2), Mouna Mnif (3), Mohamed Abid (3), Hammadi Ayadi (1), Leila Keskes (1), Abdellatif Maalej (1)

1. Laboratoire de Génétique Moléculaire Humaine, Faculté de Médecine de Sfax, Sfax, Tunisie
2. Unité de Bioinformatique, Centre de Biotechnologie de Sfax, Sfax, Tunisie
3. Service d'Endocrinologie, Centre Hospitalo-universitaire Hédi Chaker de Sfax, Sfax, Tunisie

Mots clefs : Maladies, Auto-immune Thyroïdiennes, Tour du Génome, Liaison Génétique

Résumé :

Les maladies auto-immunes thyroïdiennes (MAIT) incluent la maladie de Basedow (**MB**) et la thyroïdite de Hashimoto (**TH)**. La présence d'infiltrat lymphocytaire intra thyroïdien et d'auto anticorps circulants spécifiques caractérise ces maladies. L'émergence des MAIT dépend d'une prédisposition génétique, de facteurs environnementaux et d'un dysfonctionnement immunitaire.
Pour rechercher les facteurs génétiques de susceptibilité aux MAIT dans la population Tunisienne, nous avons réalisé un criblage de génome sur une famille informative de 12 membres appartenant à un isolat à haute prévalence de MAIT (**MB** et **TH**) utilisant 495 marqueurs microsatellites de type $(AC)_n$ et séparé de 10 cM en moyenne. Le logiciel « MERLIN » et la méthode des « lod-scores » ont été utilisés pour l'analyse de liaison.
Nos résultats ont permis de caractériser trois régions chromosomiques 5q13, 12q24 et 18q21 liées aux MAIT, particulièrement le marqueur D12S79 qui montre la liaison la plus forte (NPL=3,68, p=0,0001). Les résultats du typage de 20 marqueurs microsatellites à proximité de ce marqueur, supportent l'hypothèse de liaison génétique (NPL > 2 ; p=0,02) pour les marqueurs (D12S1341, D12S354, D12S1718, D12S1612, D12S340, D12S1639 et D12S1675).
En conclusion, nos résultats suggèrent que les régions 5q13, 12q21-24, 18q21 pourraient augmenter le risque de développer les MAIT dans la population Tunisienne. En perspectives la région chromosomique 12q21-24 fera l'objet d'une investigation plus poussée visant l'identification de nouveaux gènes positionnels responsables de la liaison génétique rapportée.

P405 : A propos de 3 cas de contraction d'une prémutation maternelle du gène FMR1 à son fœtus

Auteurs :

Bénédicte Gerard (1), Eric Bieth (2), Véronique Gaston (2), Claire Vigier (2), Martine Raynaud (3), Laetitia Monteil (2)

1. Laboratoire de diagnostic génétique, Nouvel Hôpital Civil, Strasbourg, France
2. Génétique médicale , Hôpital Purpan, CHU Toulouse , Toulouse, France
3. Génétique, Hôpital Bretonneau, CHRU Tours, Tours, France

Mots clefs : FMR1, prémutation, contraction, conseil génétique

Résumé :

Les prémutations du gène *FMR1* sont instables : cette instabilité dépend de plusieurs facteurs dont le sexe du parent transmetteur, le nombre de répétitions CGG et la présence ou non d'interruptions de type AGG. Dans l'immense majorité des cas, la prémutation augmente de taille : elle peut augmenter de quelques répétitions ou bien passer à un nombre très important de répétitions, avec acquisition d'une méthylation anormale (mutation complète). Cependant, de rares évènements de contraction ont été observés (Affaro et al, AJMG 2013).
Nous rapportons ici la description de 3 cas de contractions d'expansions CGG du gène *FMR1* découvertes dans le contexte d'un diagnostic prénatal. Dans ces trois cas, le fœtus était de sexe masculin. Pour la 1ère situation, la mère, âgée de 32 ans, était porteuse d'une prémutation de 87 +/-3 CGG et l'analyse sur liquide amniotique direct avait montré la présence d'un allèle prémuté de 58 +/-2 CGG. Le second cas concerne une mère de 34 ans, porteuse d'une prémutation de 100 CGG. L'analyse sur villosités choriales avait montré la présence d'une contraction à 72 CGG chez un fœtus de sexe masculin. Pour cette même patiente il y avait eu un précédent diagnostic prénatal sur villosités choriales aboutissant à une interruption médicale de la grossesse pour un fœtus féminin porteur d'une mutation complète. Le dernier cas concerne une mère de 27 ans, porteuse d'une prémutation de 130 +/-5 CGG. D'après l'analyse des villosités choriales, l'allèle transmis au fœtus était de taille normale comprenant 30 CGG avec une interruption AGG comme l'allèle maternel normal alors que l'analyse de marqueurs juxta-géniques avait montré que c'est bien l'allèle lié à la prémutation qui a été transmis. Dans les deux premiers cas, il s'agit vraisemblablement d'une rétraction vraie du nombre de CGG et dans le dernier cas, l'hypothèse d'une « conversion génique » a été retenue, plutôt que celle d'une double recombinaison, peu probable sur une région peu étendue. Dans ces trois cas, le séquençage avait démontré que le codon ATG d'initiation, proche de la répétition CGG, était bien conservé.
Dans le contexte du conseil génétique anténatal, le diagnostic prénatal est indiqué quelle que soit la taille de la prémutation maternelle compte tenu du risque plus ou moins élevé de transmission du syndrome de l'X Fragile. Néanmoins, nous adaptons notre information et l'organisation en pratique du prélèvement fœtal (biopsie de villosités choriales et/ou amniocentèse) en fonction de la taille de la prémutation, du risque de mosaïque de taille d'expansions, des limites d'interprétation de la méthylation sur villosités choriales et de l'histoire familiale. Les 3 situations rapportées ici nous encouragent à considérer les rares cas de contraction dans notre conseil génétique anténatal.

P406 : Probabilités bayesiennes multiples et tableaux de contingence pour un meilleur calcul du risque génétique

Auteurs :

Franck Sturtz (1, 2), Benoît Funalot (3, 4), Bérénice Hébrard (5), Anne-Sophie Lia (1, 6)

1. Biochimie et Génétique Moléculaire, CHU Dupuytren, Limoges, France
2. Génétique Médicale, Université de Limoges, Limoges, France
3. Département de Génétique Médicale, CHU Créteil-Henri-Mondor, Créteil, France
4. Génétique, Université de Paris-Créteil-Val-de-Marne, Créteil, France
5. Génétique Médicale, CHU Créteil-Henri-Mondor, Créteil, France
6. Biochimie et Génétique Moléculaire, Université de Limoges, Limoges, France

Mots clefs : génétique formelle, probabilités bayesiennes, 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 bayesiennes qui tiennent compte d'informations pour préciser le risque sont utilisées mais sont souvent, elles aussi, très difficiles à utiliser dans la pratique car la formule classique n'est pas d'usage intuitif et l'usage de probabilités bayesiennes avec de multiples éléments d'information n'est pas courant.
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, d'une utilisation assez ardue.

Plusieurs exemples de cette utilisation de probabilités bayesiennes multiples et de ces tableaux de contingence ont été publiés dans un ouvrage ("Calcul du risque génétique : Méthodes et cas cliniques corrigés") par les mêmes auteurs que cet abstract. Editions Doin. ISBN : 978-2-7040-1418-7.

P407 : Détection prénatale du syndrome de Nager, par puce à ADN, chez un fœtus présentant une hypoplasie de la mandibule à 12 semaines d'aménorrhée.

Auteurs :

Jean-Luc DHERBEY (1), Isabelle REBEYRAT-PICHON (1), Marie-Hélène PANELLA (1), Véronique GB (1), Gregory EGEA (1), Marc NOUCHY (2), Alain LIQUIER (2), Delphine ROUSEE (3), Pierre ARNOULD (3), Laure RAYMOND (1)

1. Département de génétique, Laboratoire Eurofins Biomnis, Lyon, France
2. Cytogénétique, Laboratoire Eurofins Biomnis, Lyon, France
3. Gynécologie-Obstétrique, CH Annecy Genevois, Annecy, France

Mots clefs : Syndrome de Nager, SF3B4, puce à ADN, prénatal

Résumé :

Le syndrome de Nager appartient au groupe des dysostoses acrofaciales. Il est caractérisé par une micrognathie, une hypoplasie de l'étage moyen de la face, et des anomalies des membres, en particulier les extrémités des membres supérieurs. L'expressivité est variable, certains patients pouvant présenter une simple hypoplasie des pouces. Les fonctions cognitives ne sont pas affectées. La transmission est autosomique dominante, liée à des mutations perte de fonction du gène *SF3B4* : environ 50 mutations ont été rapportées à ce jour, exclusivement des mutations ponctuelles ou insertions/délétions, à l'exception d'une délétion de 400 kilobases. Moins de 5 cas ont été diagnostiqués en prénatal et publiés, dont un seulement au premier trimestre de la grossesse.
Nous présentons ici le cas d'un fœtus pour lequel un micro-rétromandibulisme a été suspecté à l'échographie de 12 semaines d'aménorrhée (SA) et confirmé à 14SA. Le caryotype fœtal sur biopsie de trophobaste n'a pas montré d'anomalie, sur un fœtus de sexe masculin, et l'analyse sur puce à ADN (Illumina CytoSNP12 300K, 30kb de résolution médiane) a mis en évidence une délétion hétérozygote de 330 kilobases en 1q21.2, de formule chromosomique arr[GRCh37] 1q21.2(149815079_150142121)x1 dn. Sa présence a été confirmée en qPCR. L'étude des parents a révélé que cette délétion est survenue probablement *de novo.*
A 22SA, le contrôle échographique retrouve un ensemble polymalformatif avec micro-rétromandibulisme, micromélie mésomélique des membres supérieurs, présence de seulement 4 rayons métacarpiens aux deux mains avec impression de pouces rudimentaires. A 36SA est survenue une mort fœtale in utero, le poids fœtal était de 1530g, le placenta était hypoxique. Une radiographie du squelette fœtal a montré une absence complète d'ossification de la mandibule.
La délétion détectée chez ce fœtus a été classée probablement pathogène et explique le phénotype fœtal : la région n'est pas polymorphe (DGV) et contient 9 gènes OMIM dont *VPS45A*, impliqué dans les neutropénies congénitales sévères autosomiques récessives, et *SF3B4*, impliqué dans le syndrome de Nager autosomique dominant. Une délétion chevauchante, plus large de ~100 kilobases (arr[GRCh37] 1q21.2(149852674_150257430)x1), a été rapportée dans la littérature (Lund *et al*, EJMG, 2016) chez un fœtus de 12 semaines avec micrognathie, hyperclarté nucale, et os longs courts. Nous avons donc conclu à un syndrome de Nager pour ce foetus.
Nous rapportons ici le second cas de syndrome de Nager détecté au premier trimestre de la grossesse, et nous soulignons que les deux cas sont liés à des délétions du gène *SF3B4* et de sa région, alors qu'aucun autre cas de délétion équivalente n'a été décrit à notre connaissance.

P408 : Populations humaines isolées: les enjeux du phasage et de l'imputation

Auteurs :

Anthony Francis Herzig (1, 2), Teresa Nutile (3), Marie-Claude Babron (4, 2), Marina Ciullo (3, 5), Céline Bellenguez (6), Anne-Louise Leutenegger (4, 2)

1. Université Paris-Diderot, Sorbonne Paris Cité, UMR 946, F-75010, Paris, France
2. Genetic variation and Human diseases, Inserm, UMR 946, F-75010 , Paris, France
3. Institute of Genetics and Biophysics, A. Buzzati-Traverso - CNR, Naples, Italie
4. Université Paris-Diderot, Sorbonne Paris Cité, UMR946, F-75010, Paris, France
5. , IRCCS Neuromed, Pozzilli, Isernia, Italie
6. Inserm, U1167, RID-AGE - Risk factors and molecular determinants of aging-related diseasesrelated diseases, Institut Pasteur de Lille, University of Lille, Lille, France

Mots clefs : Populations isolées, phasage et imputation, évènement fondateur, traits complexes, données de séquençage

Résumé :

Les études d'association pangénomique (GWAS) ont permis de progresser considérablement dans la compréhension de la composante génétique des traits complexes. Cependant, l'ensemble des variants identifiés par GWAS, le plus souvent fréquents, ne suffit pas à expliquer la totalité de l'héritabilité génétique de la plupart des traits. Par conséquent, l'attention s'est tournée vers d'autres causes génétiques possibles, notamment les variations rares. Etudier ces variants nécessitent cependant d'avoir accès à de très larges échantillons, séquencés pour l'exome ou le génome entier. Une telle approche étant financièrement inaccessible dans la plupart des cas, une solution plus économique a été proposée : imputer les variants rares chez des individus génotypés sur des puces de variants fréquents grâce à des panels publics de données séquencées (par exemple, le 1000 Genomes Project ou le Haplotype Reference Consortium) ou même un panel spécifique à la population étudiée.
L'étude des variants rares dans les populations isolées est une stratégie qui peut se révéler particulièrement intéressante. Tout d'abord, ces populations ont plusieurs caractéristiques inhérentes bénéfiques pour l'étude des traits complexes (homogénéité génétique et environnementale). De plus, dans chaque population isolée, certains variants rares en population générale peuvent être retrouvés avec une fréquence relativement élevée du fait de l'événement fondateur de l'isolat et de la dérive génétique. Grâce à ces deux caractéristiques, on s'attend à une puissance fortement augmentée pour étudier de tels variants en population isolée. Cette approche a par exemple conduit à la découverte d'une association entre le gène TREM2 et la maladie d'Alzheimer dans la population islandaise, également identifiée en population européenne générale.
Les outils d'analyses actuels peuvent ne pas être bien adaptés pour les caractéristiques typiques des populations isolées ou ne pas profiter pleinement de la structure particulière de telles données. Nous proposons d'explorer la palette de méthodes qui pourraient être employées dans les populations isolées en nous concentrant en particulier sur le phasage haplotypique – étape préalable à l'imputation - et sur l'imputation génotypique. Notre étude est basée sur les données génétiques et la généalogie de la population isolée du Campora (Sud de l'Italie), à partir desquels nous créons un vaste ensemble de données simulées typiques de la population isolée afin de tester chaque logiciel et stratégie considérés. Notre étude permet d'évaluer l'impact sur le phasage et l'imputation des caractéristiques des populations isolées et nous permet de fournir des recommandations à la communauté scientifique.

P409 : Maladie de Hirschsprung: approche génomique par séquençage nouvelle génération pour l'identification de nouveaux variants rares impliqués dans un modèle oligogénique.

Auteurs :

Thuy-Linh LE (1), Anna Pelet (1), Olivier Alibeu (2), Christine Bole-Feysot (2), Cécile Fourrage (3), Patrick Nitschke (3), Jeanne Amiel (1), Stanislas Lyonnet (1), Maladie de Hirschsprung Consortium International (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, oligogénique, variant rare, NGS

Résumé :

La maladie de Hirschsprung (MH) est une neurocristopathie caractérisée par une absence des ganglions entériques. Les voies de signalisation de RET, EDNRB et SOX10 ont été impliquées dans la MH. De plus, des variants non–codants, notamment un variant fréquent dans l'intron 1 de *RET* (IVS1- rs2435357- C>T), sont des facteurs de prédisposition à la MH. Récemment, le rôle potentiel de neuregulin 1 (NRG1) et de certaines semaphorin 3 (SEMA3) dans l'origine de la MH a été proposé grâce aux études d'associations pangénomiques (GWAS). Cependant, seule une partie de l'héritabilité de la MH a été expliquée. Notre projet vise à rechercher des variants rares chez 384 patients caucasiens et asiatiques par une approche ciblée de gènes candidats et de régions régulatrices en utilisant la technique du Séquençage de Nouvelle Génération. Au total 199 nouvelles variations ont été identifiées dans 57 gènes, *RET* et *EDNRB* étant les plus fréquemment mutés. Une mutation non-sens *de novo* et deux substitutions faux sens d'acides aminés conservés ont été trouvées dans *NRG1*. Des études de transfection cellulaire n'ont montré aucune différence de localisation sub-cellulaire entre la protéine NRG1 wildtype et les protéines NRG1 portant les variations faux sens. Des études fonctionnelles de la mutation non-sens de NRG1 sont en cours. Par ailleurs chez plusieurs patients, des variants rares ont également été identifiés dans des régions régulatrices de *SOX10*. Ils co-ségrègent avec l'allèle IVS1 prédisposant de *RET*. Ces résultats préliminaires suggèrent une potentielle interaction de variants rares contribuant à la MH à l'appui du modèle oligogénique et hétérogène de cette malformation.

P410 : Délétion 3p22.1 avec haploinsuffisance de CTNNB1, syndrome de déficience intellectuelle de description récente : un cas de présentation anténatale révélée par une microcéphalie

Auteurs :

Alain Liquier (1, 2), Grégory Egéa (1), Anne Delelis (3), Marianne Yvert (4, 2), Leila Lazaro (5), Marc Nouchy (1), Fanny Sauvestre (6), Laure Raymond (1)

1. Département de Cytogénétique et Génétique moléculaire, Laboratoire Eurofins - Biomnis, Lyon, France
2. CPDPN, Hôpital Bagatelle, Bordeaux - Talence, France
3. Cabinet gynécologie-obstétrique Estralla, Clinique Capio, Bayonne, France
4. Unité d'échographie fœtale et gynécologique, Hôpital Bagatelle, Bordeaux - Talence, France
5. Service de Pédiatrie, Centre hospitalier Cote basque, Bayonne, France
6. Unité de pathologie fœtoplacentaire, CHU, Bordeaux, France

Mots clefs : Délétion 3p22.1, gène CTNNB1, déficience intellectuelle, microcéphalie, diagnostic prénatal

Résumé :

Introduction
L'utilisation récente en diagnostic prénatal de l'analyse chromosomique sur puce à ADN permet de détecter des anomalies de petite taille (inférieure à 5Mb), non visibles en technique classique. La nosologie syndromique de ces délétions et duplications est en constante évolution. Le gène *CTNNB1*, localisé en 3p22.1, code pour la béta-catenine. Cette protéine est impliquée dans la voie de signalisation *Wnt* et le développement postnatal des dendrites neuronaux. Son haploinsuffisance est décrite récemment dans un syndrome associant déficience intellectuelle avec microcéphalie d'apparition postnatale, ataxie progressive et spasticité.
Nous rapportons un cas de présentation anténatale marqué par une microcéphalie, dans un contexte de délétion de 2,05 Mb en région 3p22.1 détectée par CGH-array.

Cas clinique
Il s'agit de la 2e grossesse d'un couple non apparenté, après FIV-ICSI, en raison d'une infertilité mixte. Dès 22SA est observée une microcéphalie isolée modérée, s'aggravant progressivement. Le PC évolue vers -3DS à 30SA, pour des biométries globales au centile 25. Un bilan génétique est réalisé. Une IRM cérébrale fœtale confirme une microcéphalie, sans anomalie morphologique ou de giration. Le couple informé des résultats des explorations génétiques décide une interruption médicale de grossesse, après consultation de conseil génétique et avis du CPDPN.

Résultats
Le caryotype fœtal, en technique conventionnelle, est sans anomalie identifiée : 46,XX. L'analyse chromosomique par SNP-array met en évidence une perte de copie d'environ 2,05 Mb en région 3p22.1 : arr[GRCh37]3p22.1(40595426_42652674)x1. Cette délétion inclut le gène *CTNNB1*.

Discussion
Le syndrome de déficience intellectuelle avec haploinsuffisance de *CTNNB1* est de description récente. Il associe variablement déficience intellectuelle, ataxie, spasticité, anomalies cutanéo-phanériennes et microcéphalie. Les cas rapportés sont peu nombreux et leur description souvent incomplète. La microcéphalie est décrite d'apparition postnatale. Aucune description anténatale n'est disponible, à notre connaissance, dans la littérature. Les anomalies génétiques associées sont soit des mutations ponctuelles soit des délétions de taille variable impliquant ce gène. La béta-catenine apparait impliquée dans l'ancrage membranaire de protéines d'adhésion participant aux connexions synaptiques. Les conséquences de ces altérations s'observent dans le développement intellectuel et les troubles du spectre autistique.

Conclusion
A notre connaissance, il s'agit du premier cas anténatal de délétion de *CTNNB1*. L'intérêt de cette observation est de souligner l'apparition anténatale possible de la microcéphalie associée à l'haploinsuffisance de *CTNNB1*.

Résumé Poster - soumission.docx

P411 : Anomalies de structure et de nombre de l'X en mosaïque placentaire ou fœtale.

Auteurs :

Wallid Deb (1), Mathilde Pacault (1), Claire Beneteau (1, 2), Sébastien Schmitt (1), Claudine Le Vaillant (3, 2), Norbert Winer (3, 2), Michel Pasco (4), Olivier Pichon (1), Stéphane Bézieau (1), Cédric Le Caignec (1), Kamran Moradkhani (1)

1. Service de Génétique Médicale, CHU de Nantes, Nantes, France
2. Centre Pluridisciplinaire de Diagnostic Prénatal, CHU de Nantes, Nantes, France
3. Service de Gynécologie-Obstétrique, CHU de Nantes, Nantes, France
4. Gynécologie médicale et obstétrique, CH de Cholet, Cholet, France

Mots clefs : Mosaïque chromosomique confine au placenta (CPM), mosaïque fœtale vraie (TFM), Discordance fœto-placentaire, anomalie de Chromosome X, XIST, Diagnostic Anténatal.

Résumé :

Introduction
En période prénatale, une discordance fœto-placentaire au caryotype est observée dans environ 2% des cas (Malvestiti et al, 2015). La discordance peut correspondre à une mosaïque confinée au placenta (CPM) ou au fœtus (TFM). Le prélèvement ultérieur de liquide amniotique (PLA), certes invasif, reste nécessaire pour déterminer le type d'anomalie et sa répartition au sein des tissus étudiés et préciser les risques pour la grossesse (Toutain et al, 2010). Parmi les anomalies chromosomiques identifiées les cas rapportés d'anomalies de structure/nombre des gonosomes et plus particulièrement du chromosome X confinées au placenta ou au fœtus sont rares.
Matériel/méthodes
Prélèvements/analyses cytogénétiques : les biopsies de trophoblaste (BT) et/ou amniocentèses ont été effectuées par deux gynécologues-obstétriciens expérimentés sous contrôle échographique. L'indication de prélèvement s'est faite selon les recommandations en vigueur de la Haute Autorité de Santé.
Résultats
Chez la première patiente une CPM de type 1 pour un variant structural rare du chromosome X a été mise en évidence. La BT réalisée pour une clarté nucale augmentée montrait un caryotype normal au direct 46,XY et 46,XX après culture, interprété comme contamination maternelle. Cependant, le caryotype lymphocytaire à la naissance réalisé devant une discordance de sexe confirme la formule 46,XX. Une analyse par FISH utilisant les sondes *CEPX/SRY* sur cytotrophoblaste montre bien deux signaux du chromosome X dont un sur le chromosome identifié comme Y initialement. Pour la seconde patiente la cytogénétique est en faveur d'une CPM type 3 pour un marqueur chromosomique surnuméraire de l'X avec *XIST* présent. La BT réalisée (dépistage de la T21 la plaçant dans un groupe à haut risque) montrait cette formule : 46,XX/47,XX,+mar(X); 70%/30%. A l'analyse des amniocytes le marqueur était présent à l'examen direct mais non à la culture. Dans le troisième cas, la BT était indiquée pour une clarté nucale à 7 mm à 10 SA. Le caryotype direct 46,XX n'a pas pu être confronté à celui de la culture (échec). Devant la persistance de l'hyperclarté nucale, une CGH-array a été effectuée sur une PLA à 23SA. Une monosomie X homogène a été mise en évidence chez le fœtus, et donc sans corrélation avec la BT (malgré l'absence de culture). Ce cas de TFM pour une monosomie X s'est révélé par une clarté nucale très élevée comme souvent dans le syndrome de Turner, mais avec caryotype initial normal.
Discussion
Nous rapportons ces rares cas de mosaïque placentaire ou fœtale pour des anomalies de nombre ou de structure de l'X. Cela confirme la nécessité du second prélèvement en cas de résultats discordants à la BT. Dans le second cas la présence du marqueur *XIST*, comme montré par Le Caignec et al., 2003 ; et son association à un phénotype moins sévère qu'un fœtus présentant une disomie fonctionnelle de l'X (par perte de *XIST*) a pu orienter la consultation et apporter des informations plus rassurantes au couple.

P412 : Identification de 9 loci modificateurs du phénotype dans le syndrome de Marfan

Auteurs :

Mélodie AUBART (1, 2), Steven GAZAL (3), Pauline ARNAUD (1), Louise BENARROCH (1), Marie-Sylvie GROSS (1), Julien BURATTI (4), Anne BOLAND (5), Vincent MEYER (5), Nadine HANNA (6), Olivier MILLERON (7), Chantal STHENEUR (7), Thomas BOURGERON (8), Isabelle Desguerre (2), Marie-Paule JACOB (1), Laurent GOUYA (7), Emmanuelle GENIN (9), Jean-François DELEUZE (5), Guillaume JONDEAU (7), Catherine BOILEAU (1)

1. Laboratory for Vascular Translational Science, INSERM U1148, CHU X. Bichat, Paris, France
2. Service de Neuropédiatrie, Hôpital Necker-Enfants malades, Paris, France
3. INSERM U946, CHU X. Bichat, Paris, France
4. Fondation FondaMental, Institut Pasteur, Paris, France
5. Institut de Génomique, Centre National de Génotypage, CEA, Evry, France
6. Département de Génétique , CHU X. Bichat, Paris, France
7. Centre National de Référence syndrome de Marfan et syndromes apparentés, CHU X. Bichat, Paris, France
8. Human Genetics and Cognitive Functions Unit, Institut Pasteur,, Paris, France
9. INSERM U1078, CHRU Brest, Brest, France

Mots clefs : Syndrome de Marfan, Variabilité, phénotypes extrêmes, eQTL

Résumé :

La variabilité clinique est observée dans de nombreuses maladies mendéliennes entrainant des phénotypes différents y compris parmi les individus porteurs d'une même mutation. L'identification de ces gènes modificateurs reste rare et difficile malgré l'accessibilité d'outils de séquençage génomique puissants.
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 notament des anévrismes de l'aorte ascendante à risque de dissection mettant en jeu le pronostic vital des patients. Il est caractérisé par une grande variabilité clinique aussi bien dans l'âge de survenue et la gravité des symptômes que dans les systèmes atteints. A ce jour, il n'existe aucun facteur modificateur du phénotype connu en dehors de mutations dans les exons 24 à 32 prédominantes dans les formes sévères néonatales.
Pour contourner la problématique du nombre de sujets disponibles pour l'étude de la variabilité dans cette maladie rare et promouvoir les informations apportées par les études intra-familiale, nous avons réalisé une étude génomique croisée d'une étude d'association (génotypage et exome) sur phénotypes aortiques extrêmes (102 individus), d'une étude de liaison dans des fratries de phénotype identique ou opposé (14 fratries) et d'une étude eQTL sur l'expression de *FBN*, marqueur de la variabilité du phénotype (80 sujets). L'étude eQTL est la seule à avoir retrouvé un marqueur d'emblée associé significativement à l'expression de *FBN1* (cf abstract spécifique). Etant donné la limite du nombre d'individus disponibles, les résultats dépassant le seuil de réplicativité dans les différentes études ont été croisés et ont permis de mettre en évidence 9 loci retrouvés dans au moins 2 études, dont 2 retrouvés dans 3 études dont le locus majeur de l'eQTL. Enfin, un locus retrouvé dans l'étude des fratries (lodscore 2,7) et l'étude eQTL ($6,10^{-6}$) encadrait le gène *PRKG1*, gène chez lequel des mutations sont connues comme causant un anévrisme de l'aorte ascendante. Aucune mutation exonique de *PRKG1* n'était présente dans notre population. Par ailleurs, l'étude d'exome chez des sujets porteurs d'un phénotype particulièrement sévère a retrouvé un deuxième épisode mutationnel dans un autre gène chez 3 d'entre eux dans des gènes connus pour être impliqués dans les anévrismes de l'aorte ascendante.
Cette étude montre la complexité de l'architecture sous-jacente de la variabilité phénotypique dans le syndrome de Marfan avec l'intrication probable de variants rares à effets forts et de variants plus fréquents. Par ailleurs, elle identifie *PRKG1*, impliqué dans la contractilité de la cellule musculaire lisse, comme acteur majeur du phénotype aortique. Enfin elle montre que les études génomiques croisées intégrant les études familiales peuvent être une solution à l'étude de la variabilité du phénotype dans les maladies rares.

Abstract_assises2018.docx

P413 : 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), Nadine BOTHEREL (2), Amaury VAYSSE (3), Gilles CHAUDIEU (4), Florent ROLLIN (3), Philippe PILORGE (5), Benoit Hedan (1), Patrick Devauchelle (6), Clotilde de Brito (7), Eric GUAGUERE (8), Anne-Sophie GUILLORY (3), Jérôme Abadie (9), Stéphanie Robin (1), Anne THOMAS (10), Catherine André (7)

1. Equipe Génétique du Chien, UMR6290/CNRS/Université de Rennes 1, Rennes, France
2. Equipe Génétique du Chien, UMR6290/CNRS/Université de Rennes 1, RENNES, France
3. Equipe , UMR6290/CNRS/Université de Rennes 1, RENNES, France
4. , Clinique vétérinaire Beaulieu, Chamalières, France
5. , Clinique vétérinaire St-Cyr, RENNES, France
6. , MICEN VET, Créteil, France
7. Equipe , UMR6290/CNRS/Université de Rennes 1, Rennes, France
8. , Clinique vétérinaire St Bernard, LOMME, France
9. LUNAM University, ONIRIS, AMaROC, Ecole Nationale Vétérinaire, Agroalimentaire et de l'Alimentation Nantes Atlantique, Nantes, France
10. Laboratoire de génétique animale, ANTAGENE, LA tour de Salvagny, France

Mots clefs : Biobanque, Chien, Modèle, Maladies génétiques

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 rares humaines. 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 humaines, comme par exemple les génodermatoses, neuropathies, épilepsies, rétinopathies, ou diverses anomalies du développement. La base de données constitue également une ressource épidémiologique pour toutes ces maladies canines.
Cette biobanque, unique en France, est disponible à la communauté scientifique pour la recherche biomédicale en génétique humaine et vétérinaire et est actuellement utilisée et distribuée dans le cadre de projets collaboratifs français, européens et américains.
Les échantillons sont disponibles sur demande sur le site http://dog-genetics.genouest.org et à l'adresse : cani-dna@univ-rennes1.fr.

2017_10_Andre_Assises_CaniDNA.doc

P414 : Démembrement des maladies complexes arthrite juvénile idiopathique et polyarthrite rhumatoïde par exome sequencing chez 54 cas index et leurs apparentés.

Auteurs :

David Geneviève (1), Elodie Sanchez (2), Frédéric Tran Mau Them (3), Eric Jeziorski (4), Sylvie Jean (5), Bertrand Isidor (6), Isabelle Touitou (7), Thomas Guignard (8), Maïlys Cren (9), Pascal Pillet (10), Sylviane Poignant (11), Soizic Tiriau (11), Pascale Plence (12), Florence Apparailly (13)

1. Département de Génétique Médicale, Maladies Rares et Médecine Personnalisée, Génétique cliniqu, CHU Montpellier, Université Montpellier, Centre de référence anomalies du développement SORO. Unité Inserm U1183, Montpellier, France
2. Service de génétique clinique, Centre de référence anomalies du développement SORO, CHU Montpellier, Université Montpellier, Centre de référence anomalies du développement SORO. Unité Inserm U1183, Montpellier, France
3. Département de Génétique Médicale et Inserm U1183, CHRU Montpellier et Institute of Regenerative Medicine and Biotherapies (IRMB), Montpellier, France
4. Rhumatologie pédiatrique, CHRU Montpellier, Montpellier, France
5. Rhumatologie pédiatrique, CHU Rennes, Rennes, France
6. Service de Génétique Médicale, CHU de Nantes, Nantes, France
7. Laboratoire des maladies autoinflammatoires et Unité Inserm U1183, CHRU Montpellier et Institute of Regenerative Medicine and Biotherapies (IRMB), Montpellier, France
8. Département de Génétique Médicale, CHRU Montpellier, Montpellier, France
9. Unité Inserm U1183, CHRU Montpellier et Institute of Regenerative Medicine and Biotherapies (IRMB), Montpellier, France
10. Rhumatologie pédiatrique, Hôpital Pellegrin-enfants, CHU Bordeaux, Bordeaux, France
11. Rhumatologie pédiatrique, CHU de Nantes, Nantes, France
12. Unité Inserm U1181, IRMB, Hôpital Saint Eloi, Montpellier, Montpellier, France
13. Unité Inserm U1183, Institute of Regenerative Medicine and Biotherapies (IRMB), Montpellier, France

Mots clefs : Arthrite juvénile idiopathique, polyarthrite rhumatoïde, exome sequencing, SLC29A3, IFIH1, NLRP1, MZB1, ADA2, NFKB2

Résumé :

L'arthrite est un caractérisée par une atteinte inflammatoire de l'articulation. L'arthrite peut être observée une seule fois et ne pas récidiver ou être ou chronique. Les causes de l'arthrite sont multiples, infectieuse, traumatiques, auto-inflammatoires et/ou auto-immunes.
Il existe 2 entités principales d'arthrite chronique selon l'âge de la personne atteinte. L'arthrite non infectieuse en période pédiatrique est classée arthrite juvénile infantile (AJI) dont l'incidence est 1/5000 enfant alors que l'arthrite chronique la plus fréquente de l'adulte est classée polyarthrite rhumatoïde (PR) avec une incidence de
L'AJI et la PR sont toutes les deux très hétérogène cliniquement. Sue le plan étiologie, elles sont classées dans les maladies multifactorielles, c'est-à-dire due à la combinaison de facteurs génétique ne pouvant à eux seuls être responsable de la maladie et de facteurs environnementaux. Les études pan-génomiques type GWAS n'ont pas réussi à expliquer toute l'héritabilité de ces 2 formes d'arthrite. L'hypothèse actuelle est un rôle de l'épigénétique dans l'étiologie multifactorielle.
Nous avons réalisé l'analyse par exome de 48 cas index avec AJI, dont 14 AJI FR+, CCP+ (formes pédiatriques de PR) et 6 cas index PR. Les formes familiales ont été en particulier sélectionnées.
Nous avons pu identifier des variants très rares ou jamais rapportés dans les bases de données dans plusieurs gènes déjà connus (SLC29A3, ADA2, IFIH1, NFKB2) ou dans de nouveaux gènes (MZB1, mutation de NLRP1 dans le syndrome NAIAD). Ces résultats confirment l'existence de maladies mendéliennes dans l'AJI et font suspecter également l'existence de maladies mendéliennes dans la PR. Des études fonctionnelles sont en cours pour plusieurs gènes candidats par leurs fonctions (Différentiation des lymphocytes T ou des B, etc…).
De façon intéressante, les gènes déjà connus dans la littérature sont impliqués dans des maladies complexes dont l'arthrite fait partie. L'auto-immunité peut être inconstante dans ces maladies.
Ces résultats suggèrent que l'arthrite même dans sa forme AJI ou PR peut être un symptôme d'une maladie rare plus complexe. Certaines de ces gènes sont aussi impliquées dans l'immunité innée (IFIH1, ADA2, NFKB2) soulignant le lien important entre immunité innée et maladies auto-immunes. La recherche et l'identification d'un diagnostic de précision en considérant l'arthrite comme un symptôme et non une maladie peut conduire à la prévention de symptômes de la maladie génétique et à la mise en place d'une thérapie ciblée comme chez le patient muté dans le gène ADA2.
Financements: PHRC-I GenesinJIA, Fondation Arthritis Courtins

P415 : Diabète juvénile et cataracte congénitale: mutations à deux gènes simulant une présentation de diabète syndromique

Auteurs :

Caroline Lenfant (1), Patrick Baz (2), Anne Degavre (1), Anne Philippi (1), Valérie Senée (1), Claire Vandiedonck (1), Céline Derbois (3), Marc Nicolino (4), Pierre Zalloua (5), Cécile Julier (1)

1. INSERM UMR-S958, Faculté de Médecine Paris Diderot, University Paris 7 Denis-Diderot, Sorbonne Paris Cité, Paris, France
2. Department of Ophthalmology, Hôtel Dieu Hospital, Beyrouth, Liban
3. Centre National de Génotypage, Commissariat à l'Energie Atomique, Institut de Génomique, Evry, France
4. Division of Pediatric Endocrinology, Hôpital Femme-Mère-Enfant, Hospices Civils de Lyon, Lyon1 University, Lyon, France
5. Scool of Medicine, Lebanese American University, Beyrouth, Liban

Mots clefs : diabète, maladie monogénique, cataracte congénitale, syndrome, séquençage d'exome, pénétrance incomplète, expressivité variable, consanguinité

Résumé :

Les diabètes monogéniques représentent environ 1 à 5% des cas de diabète et peuvent se manifester dans des contextes de présentation syndromique. Nous avons étudié le cas d'une fille atteinte de diabète juvénile insulino-dépendant diagnostiqué à l'âge de 6 ans, associé à une cataracte congénitale. Les parents étaient consanguins et ni les parents ni les quatre frères et sœurs ne présentaient de diabète ni de cataracte, suggérant un syndrome récessif. Par séquençage d'exome du cas index, nous avons identifié une première mutation hétérozygote dans le gène *ABCC8*, p.R825Q, affectant exactement le même acide aminé qu'une mutation *ABCC8* récurrente, p.R825W, et par conséquent probablement responsable du diabète. Nous avons également identifié une seconde mutation homozygote, p.G71S, dans le gène *CRYBB1*, connu pour être responsable de cataracte congénitale. Les deux mutations sont prédites pour être délétères par plusieurs programmes informatiques et sont absentes ou extrêmement rares dans les bases de données publiques. De façon remarquable, la mère était également homozygote pour la mutation du gène *CRYBB1*, tandis que la mère et un frère sain étaient hétérozygotes pour la mutation du gène *ABCC8*, suggérant une pénétrance incomplète des deux mutations. La pénétrance incomplète de mutations *ABCC8* est bien documentée, associée à une expressivité variable, en particulier pour la mutation p.R825W qui peut entraîner à l'état hétérozygote un diabète néonatal permanent, transitoire ou transitoire avec rechute ultérieure, un diabète de type 2 à l'âge adulte ou pas de diabète. Par contre, c'est à notre connaissance la première description d'une pénétrance incomplète pour une mutation du gène *CRYBB1*, montrant une variabilité entre individus porteurs de la mutation homozygote (mère non atteinte *vs.* enfant atteint) et dans une certaine mesure chez la patiente elle-même, dont la cataracte était de gravité très différente entre les deux yeux. Notre étude illustre l'importance d'études familiales pour révéler l'existence de facteurs confondants. Ici, la combinaison de mutations de deux gènes distincts associées à des pénétrances incomplètes imite une présentation de syndrome monogénique récessif, que la structure familiale consanguine suggérait en première hypothèse.

P416 : Apport de l'Analyse Chromosomique par Puces à ADN (ACPA) en prénatal devant des anomalies échographiques à pronostic incertain

Auteurs :

Myrtille Spentchian (1), capucine Hyon (2), celine bordet (1), elodie schaerer (1), cecile prudhomme (3), solveig heide (1), damien haye (1), sandra whalen (3), aurelia jacquette (1), Marie-Lorraine monin (1), marc dommergues (4), danièle vauthier brouzes (4), marie bailleux (4), elsa cesario (4), odile philippon (4), nicole joye (2), jean pierre siffroi (2), Marie-laure moutard (5), thierry billette de villemeur (6), stephanie valence (6), catherine garel (7), catherine allouche (7), anne-marie darras (7), carole cacheux (7), marie le meur (7), claude vibert guigue (4), frederic richard (8), frederic pachy (9), stéphanie friszer (7), sophie delahaye (7), ferdinand dhombres (7), anne-Florence alix (7), lucie guilbaud (7), anais bekmezian (10), emeline maisonneuve (7), sandra chantot bastaraud (2), jean-marie jouannic (7), delphine heron (1)

1. UF de génétique médicale, groupe hospitalier Pitié Salpêtrière, paris, France
2. UF de cytogénétique, Hôpital Armand TROUSSEAU, paris, France
3. UF de génétique clinique hôpital Armand Trousseau, Hôpital Armand TROUSSEAU, paris, France
4. Service de gynécologie obstétrique de la Pitié Salpêtrière, , groupe hospitalier Pitié Salpêtrière, paris, France
5. Service de neuropédiatrie, Hôpital Armand-Trousseau, paris, France
6. Service de neuropédiatrie, Hôpital Armand TROUSSEAU, paris, France
7. Service de gynécologie obstétrique, Hôpital Armand TROUSSEAU, paris, France
8. Service de gynécologie obstétrique, Hôpital TENON, paris, France
9. Service de gynécologie obstétrique, Hôpital SAINT MAURICE, paris, France
10. Service de gynécologie obstétrique, Les Diaconesses, paris, France

Mots clefs : - ACPA - Prénatal - Conseil génétique

Résumé :

L'Analyse Chromosomique par Puces à ADN (ACPA) est un outil diagnostique largement utilisé en prénatal. Nous présentons les résultats d'une série de 286 femmes enceintes à qui cet examen a été proposé devant un ou plusieurs signe(s) d'appel(s) échographique(s), afin d'évaluer leur adhésion, la nature des diagnostics posés, et l'impact du résultat sur la décision de poursuivre ou non la grossesse lorsque le pronostic est incertain.
Population et méthode : Entre juillet 2013 et septembre 2017, 286 ACPA (SNP-array, résolution entre 30 et 100kb, identique à celle utilisée en post-natal) ont été proposées en cours de grossesse pour des fœtus présentant des anomalies échographiques, au sein du CPDPN de l'Est Parisien, après consultation de génétique. Les indications étaient: malformation isolée (n=90), multiples (n=77), hyperclarté nucale/hygroma (n=53), anomalie de croissance isolée (n=55), hydramnios (n=11).
Résultats :
63 patientes (22%) n'ont pas souhaité réaliser l'ACPA. 6/223 (2,7%) ACPA n'ont pas pu être réalisées (échec technique).
11/217 (5%) réarrangements chromosomiques pathogènes ont été identifiés, pour (i) anomalie de croissance isolée (n=6/11), (ii) malformation isolée (n=2/11), (iii) association de 2 signes d'appel échographique (n=3/11).
Parmi les 11 diagnostics, 7 ont eu un impact direct sur la décision du couple pour la suite de la grossesse : 2 ont souhaité poursuivre la grossesse devant un pronostic neuro-développemental plutôt favorable (disomie uniparentale du 16 et disomie du chromosome 8 révélant une trisomie 8 en mosaïque faible), et 5 ont souhaité réaliser une IMG en raison du mauvais pronostic lié à l'anomalie génétique (délétion 15q26, large duplication 22q11, trisomie 22 en mosaïque, délétion 10q26, dérivé (22) surnuméraire d'une translocation t 11 ;22). Pour les 4 autres couples, le diagnostic d'un réarrangement chromosomique n'a pas impacté leur décision, déjà prise avant la réalisation de l'examen. Par ailleurs, 4 variants de signification inconnue (VOUS) ont été identifiés, dont 2 ont nécessité une étude de la ségrégation familiale, et seulement 1/223 « incidental findings » (IF) (délétion Xp22.31 responsable d'ichtyose chez un fœtus masculin).
Discussion : Nos résultats d'ACPA en prénatal sont concordants avec ceux de la littérature. Dans notre étude, la majorité des anomalies concerne le groupe des anomalies de croissance isolées (14%). Lorsque le pronostic lié au signe d'appel échographique est incertain, l'ACPA a permis d'aider à la prise de décision de poursuivre ou non la grossesse dans 63% des cas. En particulier, la technique de SNP-array a permis de mettre en évidence 2 disomies uniparentales de pronostic plutôt favorable, et la très bonne résolution des puces de mettre en évidence une délétion de quelques exons dans un gène du développement cérébral, de mauvais pronostic. L'information génétique préalable à l'examen permet d'en préciser les enjeux, en particulier concernant le risque de VOUS et d'IF.

P417 : Estimations de l'héritabilité au sens large dans une population isolée

Auteurs :

Anthony Francis Herzig (1, 2), Teresa Nutile (3), Marina Ciullo (3, 4), Hervé Perdry (5), Anne-Louise Leutenegger (6, 2)

1. Université Paris-Diderot, Sorbonne Paris Cité, UMR 946, F-75010, Paris, France
2. Genetic variation and Human diseases, Inserm, UMR 946, F-75010 , Paris, France
3. Institute of Genetics and Biophysics, A. Buzzati-Traverso - CNR, Naples, Italie
4. , IRCCS Neuromed, Pozzilli, Isernia, Italie
5. CESP, Université Paris-Saclay, Villejuif, France
6. Université Paris-Diderot, Sorbonne Paris Cité, UMR946, F-75010, Paris, France

Mots clefs : Populations isolées, Héritabilité, Composante de dominance

Résumé :

L'héritabilité est la proportion de variance d'un phénotype quantitatif expliquée par des facteurs génétiques ; on distingue l'héritabilité au sens étroit, qui ne prend pas en compte les effets de dominance, de l'héritabilité au sens large, qui inclut une composante de dominance. Si au siècle dernier, les estimations de l'héritabilité reposaient exclusivement sur des études familiales (en particulier sur des études de jumeaux), on a vu récemment apparaître des méthodes pour évaluer l'héritabilité à partir des génotypes de grands échantillons d'individus non apparentés.

La plupart de ces études basées sur les génotypes se sont concentrées sur l'héritabilité au sens étroit; celles qui ont également évalué la composante de dominance ont obtenu des résultats contradictoires avec les études plus anciennes, notamment les études basées sur de grandes généalogies extraites de populations isolées. L'intérêt des populations isolées pour l'estimation de la composante de dominance est qu'elles présentent plus de paires d'individus ayant deux ancêtres communs ou plus, qui y sont nécessaires. En outre, les deux méthodes, la méthode classique, basée sur la généalogie des individus exclusivement, et la méthode moderne, basée sur les génotypes, y sont applicables.
Nous nous sommes proposé d'essayer de comprendre l'origine des différences mentionnées plus haut. Ce travail repose sur des phénotypes et des génotypes obtenus dans la population isolée du Cilento (région de Campanie, Italie), ainsi que sur des données simulées qui reproduisent la structure de cette population. À partir de ces données, nous comparons les performances des deux méthodes.

Assises_2018_Herzig.docx

P418 : Génétique épidémiologique des maladies auto-immunes en France dans les familles atteintes de la plus fréquente d'entre elles, la polyarthrite rhumatoïde

Auteurs :

Anna Serova-Erard (1, 2), Hadrien Romiguier (3), Jocelyn Quistrebert (3), Marie-Camille Bassot (1), Juliette Crisologo (1), Aude Gatinot (1), Hermance De Mulder (1), Maxime Rigault (1), Jean-Jacques Dubost (4, 1), Thomas Bardin (5), Elisabeth Petit-Teixeira (6), Isabelle Creveaux (7, 1), Igor Tauveron (8), Laurent Gerbaud (9), François Cornélis (10, 1)

1. GenHotel-Auvergne, Faculté de Médecine, Université Clermont-Auvergne, Clermont-Ferrand, France
2. Génétique Médicale, CHU de Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, France
3. Biostatistique informatique médicale, CHU de Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, France
4. Rhumatologie, CHU de Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, France
5. Rhumatologie, CHU Lariboisière APHP, Paris, France
6. GenHotel-Evry ea3886, Université Evry Val d'Essone - Paris Saclay, Evry, France
7. Biologie moléculaire, CHU de Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, France
8. Endocrinologie, CHU de Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, France
9. Santé Publique, CHU de Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, France
10. Génétique médicale, CHU de Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, France

Mots clefs : polyarthrite rhumatoïde, maladie autoimmune, incidence

Résumé :

Introduction
Les maladies auto-immunes (MAI) touchent environ 4% de la population générale, 3 à 8 fois plus les femmes que les hommes selon les maladies, les plus fréquentes étant la polyarthrite rhumatoïde
(PR)(prévalence de 0,4%, incidence de 0,1/1000 personnes/an) et les maladies thyroïdiennes (Hashimoto (HAS) et Basedow (BAS), prévalence de 0,2% chacune). Les MAI résultent de facteurs génétiques et environnementaux, sans qu'aucun mécanisme physiopathogénique n'ait encore été identifié.

Objectif
Le but de cette étude était de préciser le risque de ces MAI chez les femmes apparentées aux personnes atteintes de PR, qui partagent avec la personne atteinte une partie de ses facteurs génétiques et environnementaux.

Patientes et méthodes
389 familles françaises caucasiennes atteintes de PR suivies depuis 1995 ont été contactées par téléphone pour recenser les cas incidents de MAI depuis l'inclusion chez 1146 femmes apparentées au 1er degré et 1899 apparentées au 2d degré, avec confirmation diagnostique médicale. L'incidence a été mesurée pour 1000 années d'observation-personnes (AOP) pour les tranches d'âge entre 30 et 59 ans (30-59) ainsi que de 60 à 79 ans (60-79), chez les femmes indemnes à l'inclusion.

Résultats
L'analyse de 24 421 AOP chez 3 045 femmes a révélé 53 cas incidents de ces MAI. Les incidences pour 1000 AOP étaient dans la tranche d'âge 30-59 ans :
- au 1er degré : 2,17 (PR), 1,79 (HAS), 0,38 (BAS).
- au 2d degré : 0,68 (PR), 0,27(HAS), 0 (BAS).

Les incidences dans la tranche d'âge 60-79 ans étaient :
- au 1er degré : 1,55 (PR), 0 (HAS), 0 (BAS).
- au 2d degré : 0,74 (PR), 0,25(HAS), 0 (BAS).

Discussion
Le risque de PR est élevé au 1er degré, particulièrement de 30 à 59 ans, et chute entre 1er et 2d degré d'un facteur supérieur à 2 (2,1 à 3,2 selon les tranches d'âge), en concordance avec un mode d'hérédité multi-génique en interaction. Le risque de HAS également élevé suggére un déterminisme multifactoriel partageant une partie de ses facteurs avec la PR. Le risque de HAS est beaucoup plus élevé que celui de BAS (x4,7 au 1er degré), suggérant un partage de facteurs moindre entre PR et BAS qu'entre PR et HAS. Ces données sont à préciser par une augmentation des effectifs, notamment pour le sexe masculin. Ces observations devront être prises en compte dans les hypothèses physiopathogénqiues faisant intervenir facteurs génétiques et environnementaux pour ces maladies.

Conclusion
Cette étude apporte une estimation d'incidence de la polyarthrite rhumatoïde (PR) et des maladies thyroïdiennes auto-immunes dans l'environnement actuel pour les familles françaises caucasiennes atteintes de PR, avec un risque élevé de PR et de

maladie de Hashimoto entre 30 et 59 ans chez les femmes de ces familles apparentées au premier degré des cas index. L'analyse épidémio-génétique est en faveur de l'intervention de multiples facteurs en interaction, en partie partagés entre PR et maladie de Hashimoto.

P419 : Etude d'une série de 43 fœtus présentant un rétrognathisme isolé ou syndromique : prise en charge, issue de grossesse, pronostic.

Auteurs :

Linda Mouthon (1), Fabienne Giuliano (1), Tiffany Busa (2), Nicole Philip (2), Cynthia Trastour (3), Julia Torrents (4), Nathalie Degardin (5), Sonanda Bailleux (6), Florence Bretelle (7), Véronique Paquis (8), Sigaudy Sabine (9)

1. Génétique clinique, Archet 2, Nice, France
2. Génétique clinique, APHM, Marseille, France
3. Gynécologie-obstétrique, Archet 2, Nice, France
4. Anatomo-pathologie, APHM, Marseille, France
5. Chirurgie plastique pédiatrique, APHM, Marseille, France
6. chirurgie ORL, CHU Lenval, Nice, France
7. Gynécologie-obstétrique, APHM, Marseille, France
8. Génétique clinique , Archet 2, Nice, France
9. Génétique clinique , APHM, Marseille, France

Mots clefs : rétrognathisme, anténatal, étiologie génétique, déficience intellectuelle

Résumé :

Introduction : Le rétrognathisme fœtal est un signe d'appel échographique majeur qui peut se manifester dès le premier trimestre de la grossesse. Il existe différentes étiologies possibles : anomalies d'origine génétique, infectieuse, mécanique ou toxique.

Objectif : L'objectif de cette étude était de réaliser une série récente de fœtus présentant un rétrognathisme afin d'étudier les diagnostics étiologiques, d'améliorer la prise en charge et le conseil génétique en prénatal.

Matériels et méthodes : Nous avons constitué une série de 43 fœtus référés au CPDPN de Nice et Marseille entre 2006 et 2016 pour un rétrognathisme isolé ou syndromique de diagnostic anténatal.

Résultat : 34 prélèvements fœtaux par amniocentèse ont été réalisés avec analyse de 33 caryotypes et 9 ACPA. Une anomalie chromosomique a été mise en évidence dans 10 cas dont 7 anomalies de nombre et 3 duplication ou délétion révélés par l'ACPA. Chez 4 fœtus un diagnostic syndromique a été porté 3 fois en situation de récurrence et une fois en raison de la survenue d'un syndrome de Treacher Collins en l'absence d'antécédent familial. Une IRM cérébrale fœtale a été réalisée chez 13/43 fœtus et a permis d'identifier chez 3 fœtus des anomalies cérébrales non visibles sur l'échographie. Après la naissance 2 nouveau-nés présentaient une anomalie chromosomique (1er cas : anomalie non visible sur le caryotype en anténatal et ACPA non disponible en 2006; 2ème cas : refus d'investigation par les parents) et 7 une pathologie mendélienne. 25 grossesses sur 43 ont été poursuivies avec 58% d'enfants vivants à l'âge de 1 an. Dans 18 cas sur 43 (42%) soit les grossesses ont été interrompues soit les nouveau-nés sont décédés en peripartum. Sur les 16/25 dossiers accessibles en postnatal, 6 enfants présentent un retard psychomoteur ou une déficience intellectuelle.

Conclusion : Cette série de 43 patients confirme les données de la littérature en ce qui concerne les étiologies du rétrognathisme fœtal. En particulier, il souligne la place importante des anomalies chromosomiques de nombre mais aussi l'implication de microremaniements chromosomiques, les autres causes étant les maladies osseuses constitutionnelles, les dysostoses mandibulo-faciales, les pathologies avec atteinte neurologique. Nous insistons sur la nécessité d'une prise en charge pluridisciplinaire prénatale comportant une analyse par ACPA après réalisation d'une FISH 18/13/X/Y normale, une IRM fœtale cérébrale systématique et une consultation avec un généticien clinicien pour un interrogatoire approfondi et un examen clinique des parents afin d'identifier d'éventuelles causes géniques présentes chez l'un d'eux.

P420 : Description anténatale du syndrome de Koolen De Vries lié à la délétion 17q21.31 à partir de 4 fœtus et revue de la littérature.

Auteurs :

marie Flores (1), Fanny Pelluard (2), Fanny Sauvestre (2), Tania Attie-Bitach (3), Arnaud Molin (4), Valérie Malan (5)

1. Anatomie et Cytologie Pathologique, Chu de Poitiers, Poitiers, France
2. Foetopathologie, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France
3. Laboratoire de Génétique Moléculaire, Hôpital Necker-Enfants Malades et Institut Imagine, Paris, France
4. Génétique, CHU de Caen, Caen, France
5. Cytogénétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France

Mots clefs : syndrome de Koolen De Vries, anténatale, corps calleux

Résumé :

Introduction: Le syndrome de Koolen De Vries décrit pour la première fois en 2006 est défini par une micro-délétion en 17q21.31 ou par une anomalie du gène KANSL-1. Les caractéristiques phénotypiques sont essentiellement fonctionnelles (retard mental, hypotonie, retard du développement comportement amicale) associées à une dysmorphie faciale et des malformations diverses. Suite à la découverte d'un fœtus porteur de l'anomalie, nous avons essayer de déterminer un phénotype anténatal.
Méthode: Nous avons réalisé un appel à collaboration sur la France métropolitaine associé à une revue la littérature.
Résultat: Nous avons inclus quatre fœtus de sexe masculin qui présentaient une délétion en 17q21.31 de taille variable. Leur point commun était une anomalie cérébrale: anomalie du corps calleux. Les autres malformations étaient variables (anomalie cardiaques, fentes palatines, anomalie uro-génitales…). La dysmorphie faciale était très discrète.
Discussion: Quatre fœtus sont actuellement connus porteur du syndrome de Koolen De Vries. L'anomalie du corps calleux, qui est leur seul point commun, est une anomalie qui n'est décrite que dans 27% des formes post-natales, et renvoye à de nombreux diagnostics différentiels. Les autres caractéristiques principales du syndrome ne sont pas accessibles à cette étape de la vie et la dysmorphie faciale n'est pas encore bien définie.
Conclusion: Actuellement, rien ne peut orienter spécifiquement vers le syndrome de Koolen De Vries. Il reste un diagnostic différentiel devant toute malformation cérébrale, cardiaque, urogénitale et fente labiale.

P421 : Le mariage endogame au Maroc: de la théorie à la pratique

Auteurs :

Hinde Hami (1), Fatima-Zahra Azzaoui (2), Houria Hardouz (1), Abdelrhani Mokhtari (1), Abdelmajid Soulaymani (1)

1. Laboratoire de Génétique et Biométrie, Faculté des Sciences, Université Ibn Tofail , Kénitra, Maroc
2. Laboratoire de Biologie et Santé, URAC 34, Faculté des Sciences Ben M'Sik, Casablanca, Maroc

Résumé :

Pour une meilleure connaissance des modèles de mariage qui président l'organisation de la circulation des gènes de la population marocaine, une étude prospective a été réalisée auprès de 810 couples échantillonnés au hasard. L'objectif de l'étude est de déterminer le niveau de l'endogamie géographique, comme étant un des facteurs renforçant l'immobilité sociale et, par conséquent l'isolement génétique des populations.
Les résultats obtenus dévoilent le cadre assez restreint dans lequel le choix du futur conjoint peut s'effectuer et indiquent clairement la tendance des couples à l'endogamie. Cette tendance est très forte chez les couples de la génération des parents.
Les comparaisons intergénérationnelles permettent de conclure à une diminution significative de l'endogamie géographique pour la génération des couples étudiés par rapport à celle de leurs parents ($p<0,001$), alors que cette tendance est pratiquement la même pour l'ensemble des parents (les parents des maris et ceux des femmes) ($p>0,05$).
La méthode de l'index d'homogamie confirme cette diminution. Cependant, les valeurs trouvées n'excluent pas l'importance de ce comportement matrimonial chez la jeune génération (66,3%, selon l'origine géographique des conjoints).

Résumé HAMI.docx

P422 : Dépistage de la trisomie 21 par analyse de l'ADN fœtal libre circulant dans le sang maternel : Retour d'expérience sur l'utilisation de la technique Illumina VeriSeqCE.

Auteurs :

Pascal MOUTY (1), Mohamed TAOUDI (1), Gregory EGEA (1), Alain LIQUIER (2), Jean-François TALY (1), Francis ROUSSEAU (1), Barbara ADDE (1), Marc NOUCHY (2), Laure RAYMOND (1)

1. Département de génétique, Laboratoire Eurofins Biomnis, Lyon, France
2. Cytogénétique, Laboratoire Eurofins Biomnis, Lyon, France

Mots clefs : Trisomie 21, ADN foetal circulant, dépistage

Résumé :

Depuis quelques années, le dépistage de la trisomie 21 fœtale peut se faire par analyse de l'ADN libre circulant dans le sang maternel. Cette stratégie a montré de très bonnes performances, d'où une augmentation importante des demandes et le projet d'un passage prochain à la nomenclature.
Après avoir analysé près de 13 000 échantillons par la technique Illumina VeriSeq 16plex manuelle, nous avons choisi d'évoluer vers la technique automatisée Illumina VeriSeq 48plex^{CE}. Nous présentons ici notre retour d'expérience sur l'utilisation de cette méthode, sur plus de 5 000 grossesses.

Comparaison 16plex/48plex : 139 prélèvements, dont 21 anomalies, testés en 16plex et dont les issues de grossesse étaient connues, ont été réévalués en 48plex. Pour 133, un résultat identique a été obtenu, 4 échantillons étaient invalides, une trisomie 18 en 16plex est apparue normale en 48plex (caryotype normal), un résultat normal 16plex est sorti « trisomie 21 » en 48plex avec une FF à 2% (caryotype normal). Les deux techniques semblent donc comparables.
Taux d'échec : Le taux d'échec technique était de 0.6% sur un premier prélèvement, et devenait inférieur à 0.2% après un deuxième prélèvement. Ces échecs sur deux prélèvements indépendants correspondaient pour la majorité à des échecs de normalisation interchromosomique, une analyse pangénomique a donc été réalisée, une trisomie 16 a par exemple été détectée.
Fraction fœtale (FF) faible : Illumina annonce que le résultat obtenu avec la technologie 48plex est fiable quelle que soit la FF. Nous avons réévalué ce point : 2.5% des dossiers présentaient une FF < 3%. Un nouveau prélèvement a alors été demandé, un délai moyen de 3 semaines a été respecté. Sur les nouveaux prélèvements, 90% ont permis d'obtenir une FF > 3%. Aucune discordance de résultat n'a été observée entre les deux prélèvements. Des tests de dilution sont en cours pour fixer un seuil.
Cas positifs : Nous avons observé 31 trisomies 21, 19 ont été confirmées au caryotype, dont un cas de grossesse gémellaire sur laquelle un seul jumeau était atteint (mosaïque 12% sur PLA). Aucun cas de faux positif ne nous a été rapporté à ce jour, sachant que pour 11 patientes le résultat du caryotype sur geste invasif n'a pas encore pu être récupéré, et une patiente a refusé l'amniocentèse.
Cas négatifs : Aucun faux négatif ne nous a été rapporté, néanmoins la majorité des grossesses sont en cours.

La méthode VeriSeq 48plex^{CE} a prouvé ses performances analytiques, lesquelles semblent se confirmer sur les fractions fœtales faibles. Nous projetons de continuer à analyser les données sur les fractions fœtales faibles, afin d'éviter au maximum la réalisation d'un second prélèvement dans un délai de 3 semaines, ce qui retarde la prise en charge de la patiente et est générateur d'angoisse.
L'utilisation des données générées pour établir un caryotype moléculaire est à évaluer.

P423 : Apport de l'ACPA chez les fœtus sans signe d'appel échographique : étude rétrospective incluant 307 fœtus.

Auteurs :

Antoine Poli (1), Matthieu Egloff (1), Marie-Paule Beaujard (1), Marie-Laure Maurin (1), Yves Ville (2), Serge Romana (1), Laurent J Salomon (2), Valérie Malan (1)

1. Service de cytogénétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, APHP, Paris, Paris, France
2. Service d'Obstétrique, Hôpital Necker-Enfants Malades, APHP, Paris, Paris, France

Mots clefs : Diagnostic prénatal, ACPA, absence de signe d'appel éhcographique, étude rétrospective

Résumé :

Au cours de ces dernières années, la faisabilité et les avantages de l'application de l'analyse chromosomique sur puce à ADN (ACPA) en prénatal ont été largement démontrés. En effet, cette technique permet la détection d'environ 6% de CNVs pathogènes cryptiques chez les fœtus présentant des malformations congénitales. Ainsi, la réalisation d'une ACPA pangénomique chez les fœtus présentant une ou des anomalie(s) morphologique(s) est une stratégie diagnostique qui a été adoptée dans de nombreux pays et notamment en France (recommandations ACLF). Par ailleurs, des études récentes ont montré qu'environ 0,6-1,7% de CNVs pathogènes sont également mis en évidence chez les fœtus sans signe d'appel échographique (signe d'appel biologique, anxiété maternelle ou antécédent d'anomalie chromosomique). Cependant, l'impact clinique d'une anomalie identifiée par ACPA peut être parfois difficile à déterminer, constituant un frein majeur à l'application de cette technique dans ces situations.

L'objectif principal de notre étude est de déterminer la fréquence et la nature des CNVs identifiés par ACPA sur une cohorte de fœtus ayant bénéficié d'un diagnostic prénatal chromosomique en raison d'un signe d'appel biologique ou d'une anxiété maternelle. Il s'agit d'une étude rétrospective, réalisée à l'Hôpital Necker-Enfants Malades, entre novembre 2015 et juin 2017. Ainsi, 317 fœtus ont été inclus.

Sur les 317 prélèvements effectués, 9 aneuploïdies (7 cas de trisomie 21 et 2 cas de trisomie 18) et une translocation t(Y;18p) complexe ont été mis en évidence. Ainsi, 307 prélèvements sans anomalie après l'examen direct ou la technique d'AneuVysion ont été analysés par ACPA. Chez ces 307 fœtus, 2 anomalies cryptiques pathogènes ont été détectées. Ces anomalies correspondent à une duplication 22q11.2 au locus du syndrome de DiGeorge/Vélo cardiofacial et une duplication 7q11.23 au locus du syndrome de Williams. Ainsi, 0,65 % d'anomalie a été mis en évidence.

Dans notre étude, le taux de CNVs cryptiques pathogènes chez les fœtus « à bas risque d'anomalie chromosomique » est similaire à celui rapporté dans la littérature. Avec les nouvelles recommandations de l'HAS concernant les indications des tests ADN libre circulant, 3 anomalies pathogènes soit 1% (2 anomalies cryptiques et la translocation Y;18) n'auraient pas été détectées. Par ailleurs, d'après les dernières données de la littérature, le risque de fausse-couche après amniocentèse ou biopsie de trophoblaste, qui a été longtemps estimé aux alentours de 1 %, serait en fait environ de 0,11-0,22 %. Certains auteurs concluent même à une absence de sur-risque lié à une procédure invasive.

Ainsi, au vu de ces données, il pourrait être envisagé de laisser le choix à la patiente appartenant au groupe « à risque » à l'issue du dépistage, de bénéficier d'un test ADNlc ou d'une ACPA. Cependant, les nouvelles recommandations de la HAS ne précisent pas si la patiente pourra choisir la stratégie dont elle souhaite bénéficier.

Abstract assises 2018 - A. Poli.docx

P424 : Pathologies liées au gène PIEZO1 et implications en médecine fœtale

Auteurs :

Claire BENETEAU (1, 2), Sophie BLESSON (3), Gilles MORIN (4), Claudine LE VAILLANT (5, 2), Madeleine JOUBERT (6), henri SEVESTRE (7), Benjamin COGNE (1), Gaelle THIERRY (1), Marie VINCENT (1), Sandra MERCIER (1), Veronique PICARD (8), Lydie DA COSTA (9), Marie-Christine BENE (10), Stephane BEZIEAU (1), Norbert WINER (5, 11), Marion EVEILLARD (10), Cedric LE CAIGNEC (1)

1. Génétique Médicale, CHU de Nantes, Nantes, France
2. Centre Pluridisciplinaire de Diagnostic Prénatal, CHU de Nantes, CHU de Nantes, Nantes, France
3. Génétique Médicale, CHU de Tours, Tours, France
4. Génétique Médicale, CHU d'Amiens, Amiens, France
5. Service de Gynécologie-obstétrique, CHU de Nantes, Nantes, France
6. Service d'Anatomie-pathologie, CHU de Nantes, Nantes, France
7. Service d'Anatomie-pathologie, CHU d'Amiens, Amiens, France
8. Laboratoire d'Hématologie, CHU Bicêtre, Kremlin-Bicêtre, France
9. Service d'Hématologie biologique, CHU Paris - Hôpital Robert Debré, Paris, France
10. Service d'Hématologie biologique, CHU de Nantes, Nantes, France
11. Centre Pluridisciplinaire de Diagnostic Prénatal, CHU de Nantes, Nantes, France

Mots clefs : PIEZO1, Stomatocytose héréditaire à cellules déshydratées, Xérocytose, Lymphoedème héréditaire, Anasarque foetale

Résumé :

Les pathologies liées au gène *PIEZO1* sont de découverte récente et peu connues en pathologie fœtale.
Le gène *PIEZO1* est tout d'abord impliqué dans sa forme autosomique dominante dans la stomatocytose héréditaire à cellules deshydratées (DHS) ou xérocytose (OMIM# 194380). La présentation clinique classique est celle d'une anémie congénitale macrocytaire bien compensée, avec des lithiases biliaires et une surcharge en fer qui apparaissent de manière plus ou moins précoce et marquée. Cette forme classique, hématologique, peut parfois être pléiotrope et s'accompagner d'œdèmes fœtaux (ascite fœtale, épanchements pleuraux, voire anasarque). Ces œdèmes en général s'amendent en période périnatale et ne laissent pas de séquelles. Mais du fait de leur abondance, ces épanchements peuvent parfois mettre en jeu le pronostic vital fœtal et/ou entraîner des interruptions médicales de grossesse quand la DHS n'est pas connue. Des mutations faux-sens à l'état hétérozygote dans *PIEZO1* ont été rapportées dans des anasarques fœtales liées à la DHS. Nous avons suivi dans ce cadre deux familles avec une évolution favorable (Beneteau, 2013) et une famille pour laquelle la grossesse a été interrompue.
La pathogénicité du gène *PIEZO1* a été récemment rapportée dans sa forme autosomique récessive dans le lymphœdème héréditaire de type III (OMIM# 616843). Celui-ci peut se manifester en anténatal par une anasarque fœtale non immune, puis dans l'enfance par un lymphœdème de la face et des 4 membres (Fotiou, 2015). Nous rapportons dans ce cadre une famille dont la grossesse a été marquée par des épanchements prénataux (chylothorax et hydramnios) et dont l'enfant est décédé vers 1 mois. Une analyse par exome a mis en évidence une mutation homozygote non-sens dans *PIEZO1.* Les parents ont pu bénéficier récemment d'un diagnostic prénatal lors d'une nouvelle grossesse. Les patients hétérozygotes d'une mutation non-sens dans *PIEZO1* sont asymptomatiques, ne présentent pas ou peu de particularité hématologique et n'ont pas de DHS. Nous suivi aussi une famille asymptomatique qui présente une délétion complète du gène *PIEZO1*. Il semble qu'il s'agisse dans ce cadre de mutations perte de fonction.
Des pathologies fœtales liées au gène *PIEZO1* sont donc impliqués en médecine fœtale et peuvent se manifester en anténatal par des œdèmes, épanchements prénataux et des anasarques fœtales non immunes. Leur reconnaissance permet d'améliorer le pronostic fœtal et le conseil génétique.

P425 : Evolution de la sensibilité et de l'impact du dépistage prénatal de la trisomie 21 en Auvergne entre 2000 et 2016. Evaluation coût-efficacité de l'apport du Test Génétique Non Invasif (TGNI) depuis 2016.

Auteurs :

Rémi VERGARA (1), Emilie DUBOTS (2), Eleonore Eymard-Pierre (3), Christine Francannet (4), Florence Gaumet (2), Laurent GERBAUD (5, 6), Laetitia GOUAS (3), Carole Goumy (3, 7), Hélène Laurichesse (8, 9), Philippe Vago (3, 7), Isabelle Perthus (10, 9)

1. génétique médicale, CHU Estaing, Clermont-Ferrand, France
2. CEMC-Auvergne, CHU Estaing, Clermont-Ferrand, France
3. cytogénétique médicale, CHU Estaing, Clermont-Ferrand, France
4. génétique médicale, CEMC-Auvergne, CHU Estaing, Clermont-Ferrand, France
5. santé publique, CHU Estaing, Clermont-Ferrand, France
6. EA 4681, PEPRADE (Périnatalité, grossesse, Environnement, PRAtiques médicales et DEveloppement), , Université d'Auvergne, Clermont-Ferrand , France
7. EA 4677, ERTICa, Université d'Auvergne, Clermont-Ferrand, France
8. Centre pluridisciplinaire de diagnostic prénatal, CEMC-Auvergne, CHU Estaing, Clermont-Ferrand, France
9. EA 4681, PEPRADE (Périnatalité, grossesse, Environnement, PRAtiques médicales et DEveloppement), , Université d'Auvergne, Clermont-Ferrand, France
10. génétique médicale, CEMC-Auvergne, CHU Estaing, Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, France

Mots clefs : trisomie 21, dépistage prénatal, registre de malformations, TGNI, étude coût-efficacité

Résumé :

Différentes stratégies de dépistage prénatal de la trisomie 21 se sont succédées depuis 2000, pour cibler au mieux les femmes enceintes à qui proposer un caryotype fœtal par amniocentèse ou biopsie de trophoblaste. Du fait du risque de perte fœtale ces prélèvements invasifs ont toujours été réservés aux femmes dont le risque apparaissait élevé : âge d'au moins 38 ans (1980), signes d'appels échographiques ou dosage de marqueurs sériques du deuxième trimestre (1997), marqueurs sériques du premier trimestre et calcul de risque combinant âge, clarté nucale et marqueurs sériques (arrêté du 23 juin 2009). En avril 2017, la HAS a publié des recommandations concernant « la place des tests ADN libre circulant dans le sang maternel dans le dépistage de la trisomie 21 fœtale » Elle préconise en conclusion du rapport que soit organisé un suivi en vie réelle du TGNI (utilisation, performances, impact) et une réévaluation à courte échéance notamment médico-économique.
Ce travail résulte d'une collaboration entre le Centre d'Etude des Malformations Congénitales en Auvergne (CEMC-Auvergne, registre labellisé par le Comité d'Evaluation des Registres) et le laboratoire de cytogénétique du CHU de Clermont-Ferrand, qui a mis au point techniquement le TGNI dès 2015 et le propose en routine depuis février 2016.
L'objectif est d'étudier l'évolution de la sensibilité et de l'impact du dépistage prénatal de la trisomie 21 en Auvergne entre 2000 et 2016 (étude populationnelle rétrospective à partir du CEMC-Auvergne), puis de réaliser une première évaluation en population de l'apport du TGNI au niveau de la sensibilité du dépistage et au niveau médico-économique. Les données concernant l'ensemble des TGNI réalisés et le nombre de prélèvements invasifs sont issues des rapports d'activité annuels du laboratoire de cytogénétique. Les coûts et tarification sont fournis par le laboratoire de cytogénétique et complétés à partir des données de la CCAM et de la TNB.
Résultats préliminaires : 560 cas de trisomie 21 ont été répertoriés entre 2000 et 2016 (taux d'incidence de 24,7 pour 10 000). Le taux de dépistage global est de 81.1% (80,6% en 2000, 83,9% en 2015) On constate une baisse de ses performances en 2009-2010 (autour de 66%) au moment de la généralisation du dépistage combiné du premier trimestre. L'amélioration du dépistage est plus importante chez les mères de moins de 38 ans qui sont majoritaires (61,5 %) Les faux négatifs du dépistage seront distingués des situations de refus de dépistage. Les prélèvements invasifs à visée diagnostique sont maintenant majoritairement des biopsies de trophoblaste (73% des cas en 2015, 20% en 2009, 4% en 2000). Une IMG est désormais réalisée vers 16,5 SA contre 21 SA en 2000.
Les résultats sur l'évaluation du TGNI sont en cours d'analyse : étude du nombre de cas supplémentaire dépisté par an (2 cas en 18 mois non dépistés par les stratégies habituelles), impact sur le nombre de prélèvements invasifs en population, étude coût-efficacité.

P426 : Anomalies épigénétiques et Troubles Causés par l'Alcoolisation Foetale : Où en sommes-nous en 2018 ?

Auteurs :

Bérénice DORAY (1, 2)

1. Service de Génétique, CHU La Réunion, SAINT-DENIS, Réunion
2. Centre Ressources ETCAF, Fondation Père Favron - CHU La Réunion, SAINT-PIERRE, Réunion

Mots clefs : Epigénétique, méthylation, chromatine, microARNs, exposition prénatale à l'alcool, ensemble des troubles causés par l'alcoolisation fœtale, syndrome d'alcoolisation fœtale, tératogénèse

Résumé :

Suspectées de longue date, les conséquences de la consommation d'alcool pendant la grossesse n'ont été reconnues que tardivement, à la fin du 20ème siècle, avec la description du syndrome d'alcoolisation fœtale (SAF), forme la plus sévère et visible des troubles causés par l'alcoolisation fœtale (TCAF). L'ensemble des Troubles Causés par l'Alcoolisation Fœtale (ETCAF) constitue un enjeu majeur de santé publique. Concernant une naissance sur 100, il s'agit de la cause la plus fréquente de troubles neurocognitifs et d'inadaptation sociale. L'alcoolisation fœtale peut rendre compte d'un déficit cognitif, mais également de troubles d'apprentissage dans un contexte dysexécutif et de troubles comportementaux rendant les parcours scolaire puis professionnel et socio-familial chaotiques.
L'exposition prénatale à l'alcool peut induire une reprogrammation des systèmes neurobiologiques et une modification des voies de développement, notamment *via* des mécanismes épigénétiques à l'origine d'anomalies de l'expression des gènes impliqués sans modification de leur séquence d'ADN sous-jacente. L'exposition à l'alcool préconceptionnelle est susceptible de provoquer des modifications épigénétiques aussi bien dans le génome maternel que paternel, modifications transmises à la descendances et responsables en particulier de troubles de croissance et d'anomalies cérébrales. La période de l'implantation de l'œuf est également à risque avec anomalie de la méthylation de sites soumis à empreinte impliqués dans la croissance embryonnaire. La période la plus sensible aux effets néfastes de l'alcool reste celle de la gastrulation avec hyperméthylation significative du promoteur de nombreux gènes impliqués dans le cycle cellulaire, la croissance cellulaire, l'apoptose et la spécificité neuronale. Anomalies de méthylation, anomalies de la chromatine et altération de l'expression de miARNs sont trois mécanismes épigénétiques rapporté après exposition à l'alcool. Ces anomalies épigénétiques sont stables chez l'individu, retrouvées chez l'adolescent et chez l'adulte également et peuvent expliquer les effets neuro-comportementaux rencontrés.
Ces résultats impliquent de modifier notre message de prévention : « zéro alcool pendant la grossesse » doit devenir « zéro alcool pendant la grossesse et dès le projet de grossesse chez la future mère et chez le futur père ».
Enfin, l'étude de ces marques épigénétiques anormales constitue un espoir de diagnostic, l'identification de tels biomarqueurs pourraient aider au diagnostic et au suivi précoce d'enfants à risque et peut-être même avoir une valeur pronostique.

Epigénétique et TCAF.docx

P427 : Etude moléculaire du gène SFTPC chez une population Tunisienne asthmatique

Auteurs :

Malek NEFZI (1), Sondess HADJ FREDJ (1), Rym DABBOUBI (1), Fatma KHALSI (2), Hajer SIALA (1), Khedija BOUSSETTA (2), Pascale FANEN (3), Taieb Messaoud (1)

1. Laboratoire de biochimie et de biologie moléculaire, Hôpital d'enfants Béchir Hamza de Tunis, Tunis, Tunisie
2. service de pédiatrie, Hôpital d'enfants Béchir Hamza de Tunis, Tunis, Tunisie
3. Département de génétique, CHU Henri Mondor, Créteil, France

Mots clefs : le géne SFTPC, Asthme, Population Tunisienne

Résumé :

Les pathologies respiratoires associées à une anomalie du métabolisme du surfactant constituent un groupe hétérogène de maladies respiratoires. L'étude moléculaire des gènes *SFTPA*, *SFTPB*, *SFTPC* et *SFTPD* codant pour des protéines du surfactant pulmonaire A, B, C et D contribuent à une meilleure compréhension de ces maladies.
Notre travail consiste à l'étude du gène *SFTPC* chez une population asthmatique dans le but d'établir le spectre de mutations en Tunisie.
Notre étude a porté sur 100 patients asthmatiques dont l'âge varie entre 20 mois et 19 ans avec une moyenne ± DS de 9 ± 4 ans. L'étude moléculaire a été menée par la technique de séquençage.
L'analyse génotypique du gène *SFTPC* chez notre population étudiée a permis d'identifier 25 variations de séquences différentes. Deux mutations faux-sens ont été rapportées, la mutation c.413C > A (T138N) au niveau de l'exon 4 et la mutation c.557G > A (S186N) au niveau de l'exon 5 avec des pourcentages respectifs de 16.4% et 17.5%. Ces deux mutations rapportées comme variations bénignes se localisent au niveau du domaine BRICHOS du gène *SFTPC* qui modifie la capacité de la pro-protéine SP-C (proSP-C) à se replier correctement, causant la formation d'aggresome et le dysfonctionnement cellulaire. Ces mutations peuvent également générer un défaut d'épissage de l'ARN pré-messager.
Bien que l'asthme est un trouble chronique des voies aériennes se caractérisant pathologiquement par l'inflammation des voies aériennes et le remodelage structurel des tissus. Les études portées sur la maladie d'asthme ont permis de rapporter que 60 à 80% de l'expression de la maladie est due aux facteurs génétiques contre 20 à 40% aux facteurs environnementaux.
Le présent travail constitue l'un des premiers travaux qui s'est intéressé à l'implication du gène *SFTPC* dans la maladie d'asthme. Les résultats obtenus pourraient contribuer à mieux comprendre les bases moléculaires de cette pathologie multifactorielle.

Résumé assises 2018 Nefzi Malek.docx

P428 : Les services reprogénétiques transfrontaliers au Canada

Auteurs :

Vincent Couture (1), Régen Drouin (2), Jean-Marie Moutquin (3), Chantal Bouffard (1)

1. Pédiatrie, Université de Sherbrooke, Sherbrooke, Canada
2. Pédiatrie, Université Laval, Québec, Canada
3. Obstétrique-gynécologie, Université de Sherbrooke, Sherbrooke, Canada

Mots clefs : Diagnostic pré-implantatoire, tourisme médical, ethnographie, éthique empirique

Résumé :

Introduction : Forme de tourisme médical, les services reprogénétiques transfrontaliers (SRT) incluent les activités de diagnostic génétique préimplantatoire (DGP), de *preimplantation genetic screening* et de leurs variantes (typage HLA, sexage, etc.). D'après les données disponibles, les SRT compteraient pour 1 à 7% de l'ensemble de la procréation médicalement assistée (PMA) transfrontalière (Couture et coll., 2015). Ils se distinguent toutefois des autres formes de déplacements transfrontaliers pour de la PMA, en raison de leurs particularités techniques. À partir de données issues d'un projet de recherche sur la PMA transfrontalière au Canada, cette communication présente les résultats liés à la question suivante: comment se structurent les SRT canadiens aux niveaux clinique, juridique et éthique?
Méthodes : Approche ethnographique, qualitative et exploratoire, basée sur trois techniques d'enquêtes : (a) une revue de la littérature sur les SRT ; (b) observation participante (8 mois dans 2 cliniques de PMA canadiennes et dans des sites connexes) ; (c) entrevues semi-dirigées auprès de 45 acteurs de la PMA (patients, personnel médical, intermédiaires). Analyse inductive thématique, assistée de NVivo 11.
Résultats : Niveau clinique : Le système de santé canadien se veut public et universel, mais l'organisation et la couverture financière des soins demeurent de juridiction provinciale. Dans ce contexte, les SRT sont surtout offerts dans des cliniques privées et ils ne sont généralement pas couverts par les systèmes de santé provinciaux. Lors de cette recherche, seulement quatre centres canadiens pouvaient réaliser la biopsie et l'analyse cytogénétique ou moléculaire des cellules embryonnaires sur place. La majorité des autres cliniques envoyaient les cellules biopsiées vers ces centres ou des centres américains. Cette étude montre l'importance, au Canada, des SRT par envoi de cellules embryonnaires et comment ils représentent un élément souvent incontournable de la prestation de service.
Niveau juridique : La Loi sur la PMA encadre la prestation de services de reprogénétique pour l'ensemble du pays, en interdisant essentiellement le sexage pour des raisons sociales. Ce type de DGP serait une des causes importantes de déplacement des Canadiens aux États-Unis.
Niveau éthique : Le déplacement de cellules embryonnaires n'est pas une source d'inquiétude pour les participants, contrairement aux usages sociaux du DGP. Dans le contexte canadien actuel, plusieurs reconnaissent l'impossibilité de limiter l'autonomie des usagers en matière de déplacement à l'étranger, même s'ils considèrent que ce n'est qu'une minorité privilégiée qui a accès aux SRT. Nos résultats pointent principalement vers des problèmes d'accessibilité aux services.
Conclusions : La situation canadienne en matière de SRT se caractérise par un manque de ressources et de services, un encadrement juridique et règlementaire insuffisant et un problème d'équité dans l'accès aux services.

P429 : Etude du gène SMN à propos d'une série de 103 cas d'origine marocaine

Auteurs :

hanane sayel (1), meriame abassi (1), mohamed ahakoud (1), oussama kettani (1), diope mody (1), said trhanint (1), ihssane elotmani (1), sanae chaouki (2, 3), laila bouguenouch (1, 3), karim ouldim (1, 3)

1. Unité de Génétique Médicale et d'oncogénétique, CHU Hassan II, fes, Maroc
2. service de pediatrie, CHU Hassan II, fes, Maroc
3. faculté de medecine et pharmacie, université my abdellah.fes, fes, Maroc

Mots clefs : amyotrophie spinale infantile, gène SMN, PCR-RFLP.

Résumé :

Introduction
Les amyotrophies spinales infantiles sont des maladies neuromusculaires héréditaires à transmission autosomique récessive caractérisées par la faiblesse et l'atrophie des muscles. Elle s'attaque aux cellules nerveuses qui stimulent et commandent les muscles volontaires et entraîne leur destruction. Les grands muscles les plus proches du squelette, comme ceux des hanches et des épaules, peuvent être plus touchés que les petits muscles des mains et des pieds et les muscles des jambes sont généralement plus affaiblis que ceux des bras. L'analyse moléculaire de l'ADN à partir d'une simple prise de sang permet de confirmer le diagnostic par la mise en évidence d'une mutation sur le gène SMN localisé sur le bras long du chromosome 5et d'éviter la biopsie musculaire et de proposer un conseil génétique ce qui rend possible le diagnostic prénatal.
Matériels et méthodes
Il s'agit d'une étude portant sur 103 enfants chez qui nous avions réalisé un PCR-RFLP sur l'exon 7 du gène *SMN* .
Résultats
Sur les 103 PCR nous avons retrouvé une délétion de l'exon 7 du gène SMN chez 26 patients soit 25.2%.
Conclusion
Il n'existe à l'heure actuelle aucun traitement étiologique de la maladie. Cependant une prise en charge précoce personnalisée, continue et régulière dans un cadre pluridisciplinaire permet de prévenir les complications articulaires, thoraciques, pulmonaires et nutritionnelles et aussi d'entrevoir une espérance de vie proche de la normale.

Amyotrophie spinale infantile (1).docx

P430 : Etude de l'endogamie géographique au Maroc: le cas de la région de Tanger-Tétouan

Auteurs :

Houria Hardouz (1), Hinde Hami (1), Layla Sbii (1), Abdelrhani Mokhtari (1), Abdelmajid Soulaymani (1), Ali Quyou (1)

1. Laboratoire de Génétique et Biométrie, Faculté des Sciences, Université Ibn Tofail , Kénitra, Maroc

Résumé :

L'ampleur et l'évolution des phénomènes d'endogamie et d'exogamie au sein d'une population ont des conséquences directes sur la répartition, la structure et l'hétérogénéité du patrimoine génétique de la population. L'objectif de cette étude est de déterminer le niveau de l'endogamie géographique chez la population de Tanger-Tétouan au Maroc, comme étant un des facteurs renforçant l'immobilité sociale et par conséquent l'isolement génétique des différentes populations.
Une enquête a été réalisée en 2014 auprès de 385 étudiants universitaires échantillonnés au hasard. En effet, à partir des données de l'enquête, le choix du conjoint est traité selon le lieu de naissance des conjoints et leur lieu de résidence juste avant le mariage chez les parents des étudiants et les couples de grands-parents maternels et paternels.
Les résultats montrent que dans la majorité des cas, les mariages s'établissaient entre personnes qui sont nées dans la même région (85% chez les parents des étudiants contre 90% chez les couples de grands-parents). D'après les données collectées, suivant le lieu de résidence prénuptial des conjoints, le taux d'endogamie est de 96.7% chez les couples de parents et 98.8% chez les couples de grands-parents.
Les comparaisons intergénérationnelles témoignent de la diminution significative de l'endogamie de la génération des grands-parents des étudiants à la génération des parents ($p<0,001$), alors que cette différence est statistiquement non significative pour l'ensemble des grands-parents maternels et paternels ($p>0,05$).
Le facteur géographique semble revêtir une importance particulière dans les échanges des conjoints. En effet, dans la région étudiée, le choix du partenaire est circonscrit par des limites géographiques relativement rapprochées.

Résumé 1 HARDOUZ.doc

P431 : Fièvre méditerranéenne familiale. A propos d'une famille

Auteurs :

hanane sayel (1), meriame abassi (1), oussama kettani (1), mohamed ahakoud (1), diope mody (1), said trhanint (1), ihssane elotmani (1), tarik SQUALLI HOUSSAINI (2, 3), karim ouldim (1, 3), laila bouguenouch (1, 3)

1. Unité de Génétique Médicale et d'oncogénétique, CHU Hassan II, fes, Maroc
2. service de nephrologie, CHU Hassan II, fes, Maroc
3. faculté de medecine et pharmacie , université my abdellah.fes, fes, Maroc

Mots clefs : fièvre méditerranéenne familiale (FMF), gène MEFV, Conseil génétique.

Résumé :

Introduction
La fièvre méditerranéenne familiale (FMF) est une maladie auto-inflammatoire d'origine génétique, touchant les populations du pourtour méditerranéen caractérisée par des accès de fièvres, des douleurs intermittentes à l'abdomen, au thorax, les articulations et éventuellement une amyloses rénale. Elle est de transmission autosomique récessive secondaire à une des 5 mutations les plus fréquemment retrouvées sur le gène *MEFV* dont 4 sur l'exon 10 et une sur l'exon 2, en outre plus d'une quarantaine de mutation ont été décrites .Le gène *MEFV* est localisé sur le bras court du chromosome 16.La colchicine est le traitement de fond de référence visant à maîtriser les accès inflammatoires et à prévenir l'amylose qui est la complication la plus grave de la FMF, une surveillance rénale est indiquée chez les individus homozygotes.
Observation
Nous allons illustrer à travers une observation concernant une famille marocaine atteinte de fièvre méditerranéenne familiale le rôle de la biologie moléculaire dans le diagnostic pré symptomatique de la FMF.

Résultats
Les mutations c.442G > C (E148Q) et C.2080A > G (M694V) à l'état hétérozygote sur l'exon 2 et l'exon 10 ont été identifiées chez une patiente atteinte d'amylose rénale. L'enquête familiale a permis de trouver les mêmes mutations chezquatre membres asymptomatiques de la famille.

Conclusion
La connaissance du statut génétique des individus appartenant à une famille à risque est indispensable pour le conseil génétique. Un diagnostic précoce permet une économie de souffrance et d'adopter une démarche therapeutique adéquate et un cout de santé moindre.

Fièvre méditerranéenne familiale (1).docx

P432 : DIAGNOSTIC MOLECULAIR DU GENE PTPN11 CHEZ UNE POPULATION MAROCAINE ATTEINTES DU SYNDROME DE NOONAN : A PROPOS DE 9 CAS.

Auteurs :

meriame abbassi (1), hanane sayel (1), mohammed ahakoud (1), oussama kettani (1), mody diop (1), said tranint (1), ihssane el otmani (1), samir atmani (2, 3), mustapha hida (2, 3), laila bouguenouch (1, 3), karim ouldim (1, 3)

1. Génétique Médicale et d'oncogénétique, Centre Hospitalier Universitaire Fès Maroc, fès, Maroc
2. Pédiatrie, Hôpital Mère-Enfant, Centre Hospitalier Universitaire Fès Maroc, fès, Maroc
3. Faculté de Médecine et de Pharmacie, Univetsité Sidi Mohammed Benabdellah, fès, Maroc

Mots clefs : Mots clés : syndrome NOONAN, gène PTPN11, Mutations, PCR, Séquençage.

Résumé :

Introduction: le syndrome de NOONAN compte parmi les maladies autosomiques dominantes les plus communes avec une prévalence de 1/1 000 à 1/2 500 naissances. Il est caractérisé par un retard statural, une dysmorphie faciale typique et des cardiopathies congénitales. Son diagnostic est confirmé par la recherche de mutation sur le gène *PTPN11* localisé sur les chromosomes 12 résultants d'un gain de fonction de la phosphotyrosine phosphatase SHP-2 (protein tyrosine phosphatase, non-receptor type 11).

Objectifs: Mise en place d'un test de diagnostic permettant la détection des mutations de *PTPN11* et l'exploration de ce gène chez les patients NOONAN. Ceci permettra pour la première fois de compléter le diagnostic du syndrome de NOONAN qui se limitait jusque là à l'observation clinique. Il permettra également d'identifier le spectre de mutations présent dans la population Marocaine atteinte du syndrome de NOONAN.

Méthodologie : l'étude a porté sur les 9 patients NOONAN recrutés au CHU HASSAN II de Fès. Le protocole PCR-Séquençage, des principaux exons touchés par les mutations, a été mis au point, et l'ADN extrait des différents patients a servi pour réaliser la PCR puis le séquençage des différents exons. Les séquences obtenues ont subis une analyse bioinformatique.

Résultats: Sur les 9 patients étudiés, quatre mutations décrites (Glu110Lys dans l'exon 3, Glu139Asp dans l'exon 4 et Met504Val, Gln510Arg dans l'exon 13) ont été confirmées chez quatre patients (44%). Ces quatre patients partagent les traits faciaux caractéristiques du syndrome de NOONAN. Trois parmi eux souffrent de sténose pulmonaire. Pourtant, le profil clinique reste assez diversifié, ce qui coïncide avec les études précédentes.

Conclusion: L'étude présente a permis de confirmer le diagnostic du Syndrome de NOONAN chez nos patients concernés, et de leur accorder une prise en charge multidisciplinaire adaptée et un conseil génétique adéquat. Cette étude nous a permis également d'avoir une idée sur le profil génétique de la population marocaine atteinte du syndrome de NOONAN.

ABBASSI MERIAME abstract NOONAN.docx

P433 : Diagnostic prénatal d'une prémutation du gène FMR1 : quels enjeux ? quelles réponses?

Auteurs :

Laetitia Monteil (1), Christelle Garnier (1), Delphine Heron (2), Perrine Charles (2), Eric Bieth (1), Christophe VAYSSIERE (3)

1. Génétique médicale , Hôpital Purpan, CHU Toulouse , Toulouse, France
2. Génétique médicale , Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière , Paris, France
3. Comité Pluridisciplinaire de Diagnostic Prénatal, Hôpital Paule de Viguier, CHU Toulouse, Toulouse, France

Mots clefs : FMR1, FXTAS, diagnostic prénatal, conseil génétique

Résumé :

Les mutations du gène *FMR1* sont à l'origine de pathologies différentes : les mutations complètes sont responsables du syndrome de l'X Fragile, affection neuro-développementale à pénétrance variable selon le sexe, alors que les prémutations sont responsables d'une insuffisance ovarienne précoce (IOP) chez certaines femmes et du «Fragile X Tremor Ataxia Syndrome» (FXTAS), affection neuro-dégénérative avec une pénétrance liée à l'âge et au sexe, plus fréquente chez les hommes. Si les demandes de diagnostic prénatal (DPN) pour une mutation complète sont largement établies en raison du risque important de déficience intellectuelle ; elles semblent exceptionnelles et sont controversées pour une prémutation, dans la mesure où la maladie est incertaine et tardive. Pourtant, nous sommes régulièrement confrontés à l'identification d'une prémutation du gène *FMR1* liée à une IOP, ou à un syndrome FXTAS, dans des familles sans cas de syndrome de l'X Fragile. Ainsi, les repères familiaux pour définir l'atteinte clinique liée à une expansion pathologique du gène *FMR1* ne sont pas ceux de la déficience intellectuelle chez un jeune enfant. Pour autant, un diagnostic prénatal reste indiqué pour les femmes dépistées porteuses d'une prémutation afin d'éviter la naissance d'un enfant atteint du syndrome de l'X Fragile. Dans ces situations, la représentation de la maladie est bien celle liée à la prémutation, c'est à dire une affection neuro-dégénérative tardive, et incertaine lorsqu'il s'agit du syndrome FXTAS.
Nous rapportons ici la première demande, dans notre service, de diagnostic prénatal pour une prémutation du gène *FMR1* de la part d'un couple dont la femme est conductrice obligatoire d'une prémutation transmise par son père atteint d'un syndrome FXTAS. Nous détaillons le parcours de ce couple depuis leur demande initiale pré-conceptionnelle en 2014, refusée par notre Comité Pluridisciplinaire de Diagnostic Prénatal (CPDPN), jusqu'à leur première grossesse actuelle en passant par plusieurs tentatives sans succès de diagnostic préimplantatoire (DPI).
Les questions éthiques soulevées par cette demande sont multiples. D'une part, comme pour certaines autres maladies neuro-dégénératives de révélation tardive, les demandes de diagnostic prénatal viennent questionner la prise en compte des progrès thérapeutiques futurs. Dans le cas du syndrome FXTAS, l'argument principal au refus du CPDPN reste la pénétrance variable de l'affection. Des études familiales complémentaires seraient nécessaires pour avancer dans la compréhension de cette variabilité de pénétrance et de fréquence selon les familles. D'autre part, notre exemple nous rappelle que certaines limites techniques d'analyse embryonnaire en DPI, connues pour les affections à expansion de triplets comme le syndrome de l'X Fragile, peuvent représenter une solution dans une situation de refus du CPDPN, alors que les indications du DPI devraient être, selon la loi française, les mêmes que celles du DPN.

P434 : Diagnostic moléculaire du gène RET chez une population marocaine atteintes de syndrome de néoplasie endocrinienne multiple de type 2 (NEM2)

Auteurs :

hanane sayel (1), meriame abassi (1), mohamed ahakoud (1), oussama kettani (1), diope mody (1), said trhanint (1), ihssane elotmani (1), hanane OUAHABBI (2, 3), karim ouldim (1, 4), laila bouguenouch (1, 4)

1. Unité de Génétique Médicale et d'oncogénétique, CHU Hassan II, fes, Maroc
2. service endocrinologie, CHU Hassan II, fes, Maroc
3. faculté de medecine et pharmacie, université my abdellah.fes, fes, Maroc
4. faculté de medecine et pharmacie , université my abdellah.fes, fes, Maroc

Mots clefs : Mots-clés : néoplasie endocrinienne multiple de type 2, gène RET, PCR séquençage.

Résumé :

Diagnostic moléculaire du gène *RET* chez une population marocaine atteintes de syndrome de néoplasie endocrinienne multiple de type 2 (NEM2)

SAYEL H.[1] ABBASSI M.[1], AHAKOUD M[1].,KETTANI O[1], MODY D.[1], TRANINT S[1], OTMANI I[1], OUAHABBI H[2,3], OULDIM K.[1,3], BOUGUENOUCH L.[1.3]

(1) Unité de Génétique Médicale et d'oncogénétique, CHU Hassan II, Fès.
(2) Service d'Endocrinologie, CHU Hassan II, Fès, Maroc.
(3) Faculté de Médecine et Pharmacie, Université Moulay Abdellah, Fès, Maroc

Introduction

Lanéoplasie endocrinienne multiple de type 2 (NEM2) est un syndrome néoplasique multiglandulaire caractérisé par la survenue d'un cancer médullaire de la thyroïde (CMT), d'un phéochromocytome (PHEO) et, dans une variante, d'une hyperparathyroïdie primitive (HPTP)dont la prévalence est estimée à 1/35000. La NEM2 est une affection héréditaire de transmission autosomique dominante à pénétrance complète liée à des mutations germinales du proto-oncogène gène *RET*.Le gène *RET*, (60 kilobases, 21 exons), situé sur la région péricentromérique du chromosome 10(10q11.2) code pour un récepteur membranaire à activité tyrosine kinase. Les mutations de *RET* associées aux NEM2 entraînent une auto activation constitutive du domaine tyrosine kinase et une activité transformante oncogénique, démontrée in vitro sur des lignées cellulaires et in vivo dans des modèles de souris transgéniques.

L'analyse moléculaire du gène *RET* permettra alors de confirmer le diagnostic en identifiant la mutation germinale du gène.L'absence de mutation fait le diagnostic de CMT sporadique non transmissible.

A travers cette étude nous allons illustrer les corrélations entre la NEM2 et les mutations du gène *RET.*

Méthodes

L'étude a porté sur 27 patients atteints deNEM2. La recherche des mutations les plus fréquentessur les exons 10 et 11 a été réalisée par la technique de PCR-séquençage.

Résultats

Sur les 27 patients, nous avons retrouvé sept patients présentant la mutation c.1900 T > C (C634R) dans l'exon 11 à l'état hétérozygote.

Conclusion

Devant tout CMT, l'enquête familiale doit être la règle. Cependant, ni la négativité de l'enquêtefamiliale, ni l'absence d'association lésionnelle ne permettent d'exclure un cas index de NEM2 porteur d'une mutation de novo dont la prévalence est estimée entre 5–16 % .Le diagnostic de certitude repose sur l'analyse moléculaire du gène *RET* avec la mise en évidence d'une mutation germinale, cette analyse doit être réalisée à titre systématique et fait maintenant partie de la prise en charge de tout CMT.

Mots-clés : néoplasie endocrinienne multiple de type 2, gène *RET*, PCR séquençage.

NEOPLASIE ENDOCRINIENNE MULTIPLE DE TYPE 2 (1).docx

P435 : Difficulté du diagnostic prénatal dans une famille tunisienne présentant une comorbidité de tyrosinémie type 1 et xeroderma pigmentosum type A

Auteurs :

Faten Hsoumi (1), Ines Ouertani (2, 3), Rym Meddeb (2, 3), Madiha Trabelsi (2, 3), Awatef Jelassi (4), Olfa Messaoud (5), Sameh Haj Taieb (4), Sonia Abdelhak (5), Ridha Mrad (2, 3)

1. Service de maladies congénitales et héréditaires, Hôpital Charles Nicolle, Tunis, Tunisie
2. Service des maladies congénitales et héréditaires, Hôpital Charles Nicolle, Tunis, Tunisie
3. Laboratoire de génétique humaine , Faculté de médecine de Tunis, Tunis, Tunisie
4. Service de biochimie, Hôpital la Rabta - Tunis, Tunis, Tunisie
5. Laboratoire de génomique, Institut Pasteur - Tunis, Tunis, Tunisie

Mots clefs : Diagnostic prénatal, tyrosinémie type 1, xeroderma pigmentosum type A, comorbidité

Résumé :

Le xeroderma pigmentosum type A (XP-A) et la tyrosinémie type 1 (TT1) sont deux maladies à transmission autosomique récessive dont l'origine génétique est différente. Le XP-A appartient au groupe des XP, génodermatoses causées par des mutations de gènes impliqués dans la réparation de l'ADN alors que la TT1 est une maladie métabolique hépato-rénale due à un déficit en fumarylacétoacétase, enzyme clef dans la voie de dégradation de la tyrosine. Les gènes responsables de l'XPA et de la TT1 sont situés respectivement au niveau des loci 9q22.33 et 15q25.1.
Nous rapportons dans ce travail une famille tunisienne présentant une comorbidité pour les deux pathologies avec les difficultés du diagnostic prénatal (DPN) qui peuvent en découler.
Il s'agit de trois sœurs (S1, S2 et S3) originaires du centre tunisien, mariées à des cousins germains et suivies dans notre service depuis 2001.
Le premier membre de cette famille qui a consulté est S1. Elle avait comme antécédents, lors de sa première consultation, 2 filles décédées par TT1. Elle a eu 3 DPN de TT1 (entre 2001 et 2009) par dosage du succinylacétone dans le liquide amniotique. Deux fœtus étaient sains. Pour le troisième qui était atteint, le couple a choisi d'interrompre la grossesse.
Sa sœur S2 a été initialement adressée pour DPN XP-A devant l'antécédent d'une fille et d'une nièce atteintes. En poussant l'enquête génétique, nous avons retrouvé le lien de parenté avec S1. En effet, la nièce atteinte était issue de l'un des DPN de S1 réalisé pour TT1. Ainsi donc, nous avons pratiqué le DPN de S2 pour les deux pathologies par deux techniques différentes et sur deux tissus différents (Etude moléculaire du gène XP-A sur ADN fœtal extrait de villosités choriales et dosage du succinylacétone dans le liquide amniotique). Le fœtus était indemne pour la TT1 mais atteint pour le XPA. La patiente a eu une interruption médicale de cette grossesse.
La troisième sœur S3 avait une fille décédée par TT1. Elle a bénéficié en 2015 d'un DPN pour les 2 pathologies qui est revenu normal.
La co-occurrence de deux maladies génétiques dans une même famille est un fait rare mais non exceptionnel. Il s'agit de la première observation rapportant la co-occurrence de la TT1 et XP-A. A travers ce travail, nous insistons sur l'importance d'une enquête génétique rigoureuse, la nécessité d'un conseil génétique adéquat et la prise en considération de toute pathologie dans son contexte géographique.

Abstract DPN XPA-Tyrosinémie. Hsoumi F..docx

P436 : Diagnostic prénatal des principales aneuploïdies par FISH, Première expérience du CHU Hassan II Fès

Auteurs :

Ihsane EL OTMANI (1), S. TRHANINT (1), M. AHAKOUD (1), D. MODY (1), O. KETTANI (1), H. SAYEL (1), H. CHAARA (2), MA. MELHOUF (2, 3), K. OULDIM (1, 3), L. BOUGUENOUCH (1, 3)

1. Unité de Génétique Médicale et d'oncogénétique,, CHU HASSAN II, Fès, Maroc
2. Service de gynécologie obstétrique,, CHU HASSAN II, Fès, Maroc
3. CHU HASSAN II,, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Fès, Maroc

Mots clefs : Trisomie 21, diagnostic anténatal, Hybridation In Situ en Fluorescence

Résumé :

Introduction
Les anomalies chromosomiques surviennent le plus souvent accidentellement. Le DPN chromosomique est donc essentiellement réalisé chez des couples sans antécédents particuliers mais pour lesquels les moyens de dépistage, échographies, les marqueurs sériques maternels du premier ou deuxième trimestre et l'épaisseur de la nuque mesurée au premier trimestre ont défini un risque particulier d'anomalies chromosomiques. La réalisation du caryotype permet néanmoins de rassurer ce couple ayant déjà vécu une situation difficile.
Matériels et méthodes
Nous rapportons notre expérience, dans le dépistage des principales aneuploïdies (trisomie 21 ; 13 ; 18) et du sexe fœtal (CEPX /SRY, grace à des techniques d'hybridation in situ en fluorescence (FISH) par l'utilisation de la sonde CEP X , Y, 18 et LSI 13 et 21. L'étude a été réalisée chez 6 femmes après ponction du liquide amniotique réalisée à 16 semaines d'aménorrhée.

Résultats
Nous avons pu diagnostiqué 3 cas positifs, un cas de trisomie 21, un cas de trisomie 13 et un dernier cas de turner avec monosmie de l'X. Le but de cette étude était de présenter les premiers résultats de diagnostic anténatal de la trisomie 21 par la technique d'hybridation in situ en fluorescence (FISH) dans notre laboratoire et de discuter son intérêt dans le diagnostic rapide de cette aneuploïdie.
Conclusion
La technique FISH permet un diagnostic anténatal rapide, des principales aneuploidies sur une faible quantité de liquide amniotique. Elle offre aux couples l'avantage de prendre, dans des délais raisonnables, la décision qui leur convient concernant la poursuite ou non de la grossesse. Elle permet souvent, avec un résultat normal, de rassurer rapidement les femmes enceintes trop angoissées.

Diagnostic prénatal des principales aneuploïdies (1).docx

P437 : Épidémiologie clinique des maladies génétique dans un des gouvernorats de la Tunisie: Bizerte

Auteurs :

Imen Chelly (1, 2), Rim Meddeb (1), Lilia Kraoua (1), Ridha M'Rad (1)

1. Service des maladies héréditaires et congénitales, Hôpital Charles Nicolles, Tunis, Tunisie
2. Service de pédiatrie, Hôpital Habib Bougatfa, Bizerte, Tunisie

Mots clefs : Handicap, maladies héréditaires, maladies congénitales, épidémiologie

Résumé :

INTRODUCTION:
La Tunisie est un pays maghrébin qui est peuplé par 12 millions habitons.Depuis toujours, elle a été et reste sillonnées par de nombreuses populations. Elle présente un taux élevé de consanguinité de 32%. Cela explique pourquoi les maladies ne sont pas si rares, mais sont plutôt orphelines.
Le gouvernorat de Bizerte est l'un des 24 gouvernorats de la Tunisie. Il est situé dans le nord du pays et couvre 2.25% de la superficie du pays. L'objectif de notre travail est d'établir la répartition géographiques des maladies héréditaires et congénitales dans ce gouvernorat et de déterminer les différentes étiologies de déficience intelectuelle.
METHODES:
Nous avons réalisé une étude descreptive, rétrospective, transversale sur une période de 5 ans (début mai 2010, fin avril 2015), à partir de la consultation de génétique médicale, au sein de service de pédiatrie à l'Hôpital Habib Bougatfa, Bizerte. Nous sommes partis d'un nombre initial de 740 patients et après consultation des dossiers nous avons retenus 568 malades.
RESULTATS:
Dans notre étude, on a une prédominance masuline avec 337 garçons et 231 filles parmi les cas index, avec un sexe ratio de 1.46. L taux de consanguinité est de 27.64%.
Le retard global de développement associé à une déficience intelectuelle a constitué le motif le plus fréquent de consultation de génétique (=40%). Les anomalies chromosomiques ont représenté 45% des étiologies de ce retard mental (essentiellement la trisomie 21). Les anomalies congénitales étaient observées dans 22% des cas. Les hémoglobinopathies étaient retrouvées dans 10.4%, les syndromes mono ou multigéniques étaient observées dans 8.1% des cas. Le reste des groupes de pathologies étaient faiblement retrouvé dans notre étude.
Des formes familiales étaient observées dans 46 cas et la comorbidité dans 12 cas.
CONCLUSION:
Il existe une sous estimation de ce groupe de maladies par insuffisance de diagnostic en rapport avec l'inaccessibilité aux soins pour les patients qui ne peuvent pas se déplacer d'une part et la non disponibilité deressources matériellees pour compléter les investigations d'autre part. Il existe aussi des difficulté dans la réhabilitation et dans la prise en charge de ces enfants souffrant d'handicap. D'où la nécessité d'élaborer une stratégie dynamique de la prévention d'handicap et de sa prise en charge.

Résumé assise de génétique 2018.docx

P438 : Choix du conjoint et homogamie sociale au Maroc: l'exemple de la population de Tanger-Tétouan

Auteurs :

Houria Hardouz (1), Hinde Hami (1), Layla Sbii (1), Abdelrhani Mokhtari (1), Abdelmajid Soulaymani (1), Ali Quyou (1)

1. Laboratoire de Génétique et Biométrie, Faculté des Sciences, Université Ibn Tofail , Kénitra, Maroc

Résumé :

La problématique d'une éventuelle hétérogamie ou homogamie sociale entre les conjoints nécessite de considérer le parcours professionnel des deux conjoints, leurs niveaux d'étude et également la position sociale des parents. L'objectif de la présente étude est de déterminer le niveau de l'homogamie sociale, peu étudiée jusqu'à présent au Maroc et étudier ses différentes caractéristiques dans la région de Tanger-Tétouan (nord-ouest du Maroc).
Une enquête a été réalisée en 2014 auprès de 385 étudiants universitaires échantillonnés au hasard. Le choix du conjoint est étudié chez les parents des étudiants et les couples de grands-parents.
D'après les données de l'étude, les conjoints se sont choisis de même niveau d'étude à 35,3%. Cependant, l'inégalité des chances de s'instruire entre les hommes et les femmes, toujours en faveur des hommes, a ouvert la voie à une certaine hétérogamie, de préférence entre catégories voisines. En effet, trois épouses sur cinq (56%) sont moins instruites que leur mari (Hypergamie).
La comparaison des catégories socio-professionnelles des conjoints montre que chez les femmes qui ont déclaré travailler, l'homogamie concerne un couple sur dix (11,7%). Les femmes choisissent des maris qui ont la même origine sociale que la leur. En outre, elles s'unissent à des hommes qui socialement ressemblent à leurs pères. En effet, près de la moitié des enfants des agriculteurs et des artisans se sont mariés entre eux et près de deux tiers des filles des agriculteurs (62,5%) ont épousé des agriculteurs.
En somme, on sait que la société contemporaine est marquée par une série de transformations qui laissent croire que la conséquence de mobilité sociale pourrait enfin se réaliser. Cependant, de nos jours, le choix du conjoint qui apparaît à chacun comme le résultat d'une décision strictement individuelle est en réalité soumis à des influences sociales inconscientes.

Résumé 2 HARDOUZ.docx

P439 : Association of the taqI polymorphism of the vitamin D receptor gene with diabetes and obesity

Auteurs :

amal Guesmi (1), radhouane Doggui (1), manel zouaoui (1), sabrine ben mbarek (1), mariem sinene (1), houyem amara (1), imen tounsi (1), rahma mahjoubi (1), amina bibi (1)

1. laboratoire de biologie clinique, institut de nutrition de tunis, tunis, Tunisie

Mots clefs : vitamin D, vitamin D receptor, diabetes, obesity

Résumé :

Vitamin D deficiency is a common worldwide problem. Low levels of serum 25-hydroxy vitamin D [25(OH)D], as a marker of vitamin D deficiency, have been linked to a wide field of health problems including metabolic diseases such as type 2 diabetes mellitus (T2DM) , maturity onset diabetes of the young (MODY diabetes) and obesity.
Relationship between vitamin D receptor (VDR) gene polymorphism and susceptibility to diabetes and several other physiopathological situations is still conflicting.
The aim of the present study was to analyse the relationship between VDR gene *TaqI* polymorphism and the T2DM, MODY diabetes and obesity in a Tunisian population.
Materials and Methods : 80 clinically diagnosed patients : 40 T2DM, 40 MODY, 40 obese subjects and 40 healthy controls from the Tunisian population were recruited. VDR rs731236(*TaqI* T > C) polymorphism was assayed by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphisms (PCR-RFLP). Vitamin D was quantified using an electrochimiluminescence assay on cobas e411-Roche analyzer.
Results: The *TaqI* polymorphism was significantly associated with MODY and T2DM groups (p=0.0001 , p=0.040 respectively). Subjects with TaqI polymorphism were 28 times more likely to have diabetes 2 (p <0.0001). The risk of having MODY diabetes was multiplied by 3 (p = 0.040). This polymorphism was also significantly associated with thigher cholesterol level (p=0.011).
Conclusion: the *TaqI* polymorphism of the *VDR* may be associated with different mechanisms that predispose to diabetes and enhance or aggravate the plasma lipid profil in these patients.

resumé-amal.docx

P440 : Association entre le polymorphisme Fok1 du gène de récepteur de la vitamine D et l'obésité, le diabète de type 2 et le diabète MODY dans la population Tunisienne.

Auteurs :

manel zouaoui (1), radhouan douggui (1), amal guesmi (1), sabrine ben m'barek (1), malek daboussi (1)

1. laboratoire de biologie clinique, institut national de nutrition et de technologie alimentaire, Tunis (Tunis, Tunisia), Tunisie

Mots clefs : le polymorphisme Fok1, récepteur de la vitamine D, l'obésité, le diabète de type 2 et le diabète MODY

Résumé :

Association entre le polymorphisme *Fok1* du gène de récepteur de la vitamine D et l'obésité, le diabète de type 2 et le diabète MODY dans la population Tunisienne
M. Zouaoui, R. Doggui, A. Guesmi, S. Ben M'barek, M. Dabboussi, M. Sinen, H. Amara, I. Tounsi, R. Mahjoub, A. Bibi

La vitamine D est classée parmi les vitamines liposolubles ayant des propriétés à la fois vitaminiques et hormonales. C'est une substance organique indispensable à la croissance et au fonctionnement de l'organisme.
La 1,25 (OH)2D la 1,25-dihydroxyvitamine D ou Calcitriol est le métabolite actif de vitamine D ; elle agit directement ou via un récepteur cytosolique, le VDR (vitamin D receptor).
L'expression et l'activation nucléaire du VDR sont nécessaires pour les effets de la vitamine D. Plusieurs variations génétiques ont été identifiées dans le VDR. Ces variations de séquence d'ADN appelées polymorphismes ont été associées à diverses situations physiopathologiques dont le diabète et l'obésité.

L'objectif de notre travail était de rechercher une association entre le polymorphisme *FokI* du gène VDR et l'obésité, le diabète de type 2 et le diabète de type MODY.
Un total de 160 échantillons sanguins répartis sur quatre groupes (40 sujets obèses, 40 sujets diabétiques de type 2, 40 diabétiques de type MODY et 40 sujets sains) a été colligé entre le 1er février 2017 et le 30 Mai 2017.
Le dosage de la vitamine D a été réalisé par chimiluminescence sur automate Cobas e411-Roche. L'étude moléculaire du polymorphisme *FokI* du gène VDR a été réalisée par PCR-RFLP.
La distribution allélique a révélé une différence significative entre les témoins et les sujets diabétiques pour le polymorphisme *FokI.* Selon le modèle de régression logistique, il a été noté que le polymorphisme *FokI* multiplie significativement le risque d'avoir le diabète de type 2 (OR=3,7 ; p=0,017) ainsi que le MODY (OR=3.9 ; p=0.030). Concernant les sujet obèses, nous n'avons pas noté de différence significative par rapport au groupe témoin pour ce polymorphisme (p =0.08).
Le polymorphisme *FokI* du gène VDR est associé au diabète type 2 ainsi qu'au MODY dans la population tunisienne.

Association entre le polymorphisme Fok1 du gène de récepteur de la vitamine D et l'obésité, le diabète de type 2 et le diabète MODY dans la population Tunisienne.docx

P441 : Besoins et points de vue de femmes enceintes dans le cadre de la génomique prénatale

Auteurs :

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

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

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

Résumé :

Les avancées de la génétique et de la génomique qui accompagnent l'avènement des tests prénataux non-invasifs donneront un accès sans précédent aux génomes des fœtus. Coincée entre les bénéfices et les dangers d'un tel développement, la communauté scientifique et médicale s'inquiète des conséquences cliniques, sociales et éthiques de l'intégration de ces nouvelles technologies en prénatale.
Dans ce contexte, nous nous sommes intéressé(e)s aux enjeux soulevés par la capacité des femmes enceintes à comprendre les implications de tels tests sur elle-même, leurs conjoint(e)s, leurs familles, le fœtus et l'enfant à naître et nous avons voulu connaître leurs points de vues concernant :

1. ce dont elles souhaitent être informées sur le génome fœtal;
2. les tests qui devraient être offerts par un système public de santé;
3. les informations dont elles ont besoin pour prendre des décisions éclairées;
4. les responsabilités qu'elles considèrent devoir prendre.

MÉTHODE : Les résultats sont tirés de 15 entrevues semi-dirigées réalisées auprès de femmes enceintes de l'Estrie (Québec), sans risque particulier ou accru de donner naissance à un enfant atteint d'une maladie génétique ou d'une anomalie chromosomique. Les données ont fait l'objet d'une analyse inductive thématique.
RÉSULTATS : Les participantes souhaitent principalement être informées des trisomies et des handicaps intellectuels. Peu veulent connaître les maladies à apparition tardive ou les informations de signification clinique incertaine. L'intégralité de leurs besoins en aide à la décision vise l'accès à des informations adéquates, expliquées de façon à favoriser une réflexion et une décision éclairées. Pour ces femmes, il revient aux professionnel(le)s de santé d'être proactif en matière d'information et ces informations sont la base du respect de leur autonomie décisionnelle et reproductive. Pour les tests prénataux (offerts ou en voie de l'être) devant faire partie du panier des services, les participantes apprécient un test sécuritaire, à large portée, leur permettant d'accéder à davantage d'informations que ce qui est offert actuellement. Elles craignent les impacts des tests sans objet médical et faits en dehors de ce cadre. Les participantes se sentent responsables de ce qu'elles peuvent contrôler. Elles se considèrent responsables d'adopter des comportements bénéfiques pour le fœtus et de participer aux soins de santé prénataux. Toutefois, cette décision demeure dans la sphère du privé. Elles rejettent toutes formes de responsabilité sociale ou médicale liées à l'état de santé de l'enfant à naître.
CONCLUSION : Les participantes sont loin du désir de l'enfant parfait, mais apprécient d'en savoir davantage sur la santé du foetus. Elles considèrent que les développements technologiques prénataux sont favorables, mais souhaitent être accompagnées adéquatement. Elles en appellent à des balises claires pour éviter les dérives individuelles, médicales et sociales.

ASSISES BOUFFARD 1.docx

P442 : MicroRNAs: key factors in autophagy inhibition and senescence induction in Hutchinson-Gilford Progeria syndrome

Auteurs :

Diane Frankel (1, 2), Valérie Delecourt (1), Elise Kaspi (1, 2), Sophie Perrin (1), Annachiara De Sandre-Giovannoli (1, 3), Nicolas Lévy (4, 3), Pierre Cau (1), Patrice Roll (1, 2)

1. Marseille Medical Genetics, Aix Marseille Univ, Marseille, France
2. Service de Biologie Cellulaire, Assistance Publique des Hopitaux de Marseille, Marseille, France
3. Service de Génétique Médicale, Assistance Publique des Hopitaux de Marseille, Marseille, France
4. Marseille Medical Genetics, Assistance Publique des Hopitaux de Marseille, Marseille, France

Mots clefs : Hutchinson-Gilford Progeria syndrome, microRNA, autophagy, senescence, proliferation, cell cycle

Résumé :

The Hutchinson-Gilford Progeria Syndrome (HGPS) is a rare genetic disease characterized by a premature aging. In the typical form, the accumulation of a toxic protein called progerin leads to cellular dysfunctions and premature senescence. Moreover, autophagy seems to be a major factor of progerin clearance into cells. We previously identified 15 upregulated microRNAs (miRNAs) in dermal fibroblasts of HGPS patients using a miRNome approach. Several of them had already been described to be involved in the regulation of cell cycle, proliferation, senescence and/or autophagy. Transfection of a combination of antagomiRs targeting 3 of these miRNAs demonstrated their role in the negative regulation of autophagy in HGPS fibroblasts, using flow cytometry and western blot. We also confirmed a link between the expression level of these miRNAs and progerin clearance. Thus, our data suggest that overexpression of these 3 miRNAs is implicated in the dysfunction of autophagy increasing progerin accumulation in HGPS cells. Furthermore, the transfection of control fibroblasts with one of the 15 upregulated miRNAs identified in our miRnome study significantly decreased proliferation and replication, associated with an increased percentage of cells in G1/S phase and senescent cells. Same results were obtained with another miRNA, except for cell proliferation. Interestingly, one of these upregulated miRNAs could be a key factor in the pathophysiology of HGPS, as it is involved in both autophagy dysfunction and senescence induction. Altogether, these data highlight the major role of miRNAs on the deregulation of important pathways in HGPS.

P443 : The association study of the Il-1B C+3954T polymorphism with periodontitis in the Algerian population

Auteurs :

KAWTHER NOURELHOUDA BOUKORTT (1), Nadjia SAIDI-OUAHRANI (1), Abdallah BOUDJEMA (1)

1. , , ORAN, Algérie

Mots clefs : Interleukin-1, aggressive periodontitis, Algerian population.

Résumé :

Background: Chronic periodontitis (PC) and aggressive periodontitis (PA) are oral infectious diseases having a complex and multifactorial etiology. Inflammatory destruction of the supporting structure of the tooth causing periodontitis results from the interaction between the microbial and the immunogenetic factors. It has been reported that genes affect the immunoinflammator response of the host with a pro-inflammatory cytokine overproduction, such as interleukin-1. This molecule is involved in regulating the immune response of the host and bone resorption.
Methods: The aim of this study was to genotyped the genetic variants IL-1B (C + 3954T) among Algerian population by means of a case / control study including 188 subjects (128 healthy controls and 151 cases including 91 with chronic form and 60 subjects with aggressive). Genotyping was performed by TaqMan allelic discrimination to seek a possible association between these polymorphisms and the occurrence of periodontitis in the Algerian population.
Results: The results showed only a significant distribution of the frequency of the minor allele and genotype carrying this allele in subjects with cases of PA (p = 0.01). The result is consistent with studies of several populations, such as the Turkish population and the Chilean population; however, we observed no association between the polymorphism and PA studied on other Caucasian populations. **Conclusion:** The polymorphism C+3954T (rs1143634T) of the IL-1B gene seems to be a genetic predisposition factor to PA but not for PC in the Algerian population.

P444 : Apport diagnostique et physiopathologique de l'IRM musculaire dans une cohorte d'enfants et d'adultes atteints d'amyoplasie

Auteurs :

Hoai Thu NGUYEN (1), Chantal DURAND (1), Frédérique NUGUES (1), Caroline DUBOIS (2), Gipsy BILLY (3), Pierre-Simon JOUK (3), Klaus DIETERICH (4)

1. Imagerie pédiatrique, CHU Grenoble Alpes, Grenoble, France
2. Imagerie et Radiologie médicale, CHU Grenoble Alpes, Grenoble, France
3. Génétique Médicale, CHU Grenoble Alpes, Grenoble, France
4. Univ. Grenoble Alpes, Grenoble Institut des Neurosciences, GIN, F--38000 Grenoble, France, CHU de Grenoble, F--38000 Grenoble, France, grenoble, France

Mots clefs : amyoplasie, arthrogryposes, IRM musculaire

Résumé :

Objectives: Amyoplasia is the most common form of Arthrogryposis multiplex congenita (AMC). However, information about the pattern of muscle involvement in amyoplasia is limited. The aim of this study was to determine if there are specific patterns of muscle involvement in amyoplasia and to find out if there is a fibro-adipose infiltration of the muscles with age. **Methods:** Between 2008 and 2017, we examined 65 patients affected by amyoplasia (33 children and 32 adults), at the Centre Hospitalo-Universitaire Grenoble Alpes. 14 patients had atypical clinical findings. MRI was performed with T1-weighted turbo spin echo (T1W-TSE) sequences. We analyzed the fibro-adipose infiltration and “grelot” sign of the muscles of the neck, the shoulder and pelvic girdle, trunk, upper and lower limbs. **Results:** Compared with atypical patients, the absence of the biceps brachii, brachialis, tibialis anterior, gracilis, and sartorius was significantly more frequent in typical patients. Mercuri scores were higher in adult patients in tensor fasciae latae, semimembranosus and vastus lateralis muscles. The adductor longus and brevis were selectively preserved. **Conclusions:** Our data provide evidence that muscle MRI can identify a specific pattern of muscle involvement in amyoplasia patients and constitutes a diagnostic biomarker with a high positive predictive value. Increasing fibro-adipose infiltration with age was observed in some muscles in a subset of patients. However further evidence is needed to determine if this reflects disease progression. The “grelot” sign gives further arguments for the congenital neurogenic origin of amyoplasia.

DIETERICH_amyoplasie_abstract_Assises2018.docx

P445 : Le handicap de patients adultes avec arthrogrypose multiple congénitale est sévère, multiple et partiellement invisible

Auteurs :

Klaus DIETERICH (1), Louis DAI (2), Marie JAEGER (2), Bernard WUYAM (3), Gipsy BILLY (4), Emmanuelle DUPRAZ (4), Agnès GASCOUIN (2), Emmanuelle CLARAC (2), Pierre-Simon JOUK (4), Dominique PERENNOU (2)

1. Univ. Grenoble Alpes, Grenoble Institut des Neurosciences, GIN, F--38000 Grenoble, France, CHU de Grenoble, F--38000 Grenoble, France, grenoble, France
2. Rééducation Neurologique, CHU Grenoble Alpes, Grenoble, France
3. Sport et Pathologies, CHU Grenoble Alpes, Grenoble, France
4. Génétique Médicale, CHU Grenoble Alpes, Grenoble, France

Mots clefs : Amyoplasie, arthrogrypose, handicap

Résumé :

OBJECTIVE. There is a recent interest to understand the handicap of adults with Arthrogryposis Multiplex Congenita (AMC), a rare disease spectrum characterized by at least two joint contractures at birth. This study is the first to describe disability patterns of a cohort of adults with AMC, in relation with their genotypes. METHODS. Retrospective analysis of the data of 43 unselected persons with AMC referred to the French Center for adults with AMC from 2010 to 2016. All patients underwent a pluri-professional systematic and comprehensive investigation of the deficits, the activity limitation, and the participation restriction (ICF), and genetic analysis when indicated. Mean age was 33.2 (13.4) years and sex ratio 27F/16M; 28 were affected by amyoplasia and 15 by other types. RESULTS. Beyond joint stiffness and deformities and muscle weakness, the well-known core symptoms quantified in the study, this study revealed that other less visible disorders contribute to severe participation restriction. These were particularly pain and psychological suffering including anxiety, fatigue, difficulty in sexual life, altered self-esteem, and feeling of solitude. Severe respiratory disorders are not frequent and linked to a specific genotype, as well as swallowing and speech disorders. Respiratory impairment did not explain gait disorders. Functional independence was worse in patients with amyoplasia than in patients with other types of AMC. CONCLUSION. This study reveals that the handicap of adults with AMC is influenced by genotypes, and that the invisible part of this handicap is important.

DIETERICH_handicapAMC_abstract_assises2018.docx

P446 - DPC : Corrélation entre le polymorphisme C677T du gène MTHFR et le taux d'homocystéine et le polymorphisme-455G/A du gène β du fibrinogène et le taux de fibrinogène Chez les sujets atteints d'artériopathie

Auteurs :

sabah Hanachi (1), Karima Sifi (1), Nacera Kerouaz (2), salima Zekri (3), khalida Boudaoud (4), Daoud Roula (5), Karima Benmebarek (3), 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. laboratoire de biochimie CHU Costantine, laboratoire de biologie et génétique moleculaire, Constantine, Algérie
4. Sevice d'endocrinologie CHU Constantine., faculté de medecine ,université constantine 3, Constantine, Algérie
5. Service de médecine interne CHU Constantine , faculté de medecine ,université constantine 3, Constantine, Algérie

Mots clefs : polymorphisme C677T du gène MTHFR, homocystéine, polymorphisme-455G/A du gène β du fibrinogène, artériopathie obliterante des membres inferieurs

Résumé :

Introduction
L'artériopathie oblitérante des membres inférieurs est une pathologie athéroscléreuse fréquente, souvent asymptomatique et grave. C'est une maladie multifactorielle. Une bonne prise en charge de ces facteurs de risque permettra certainement d'améliorer le pronostic vasculaire et vital des artéritiques.
L'objectif de notre travail est de déterminer la corrélation entre la mutation C677T du gène MTHFR et les taux d'homocystéine d'une part et le polymorphisme-455G/A du gène β du fibrinogène et les taux de fibrinogène d'autre part.
Patients et méthodes
Nous avons recruté 112 sujets ayant une AOMI et 190 témoinsprésumés sains . Des prélèvements sanguins ont été réalisés pour le dosage des paramètres biologiques et l'étude génétique du polymorphisme C677T de la MTHFR et le polymorphisme -455G/A du gène beta du fibrinogène.
Résultats
Nos résultats montrent une association positive entre l'âge avancé (92% des malades ont plus de 50 ans), le sexe masculin (72.3%), le tabac (71% des malades versus 44% des témoins), le diabète (89.09 %) et l'obésité abdominale (cm) (hommes malades 98.01± 10.78 VS 90.59± 10.81hommes témoins ; femmes malades 95.84 ±12.85 VS 91.4 ±11.06femmes témoins) et l'AOMI. Cependant, l'activité physique (14.41% des malades actifs contre 39.13% témoins) et l'IMC important (11.42% malades obèses versus 22.67% témoins) semble avoir un effet protecteur.
Notre étude retrouve également que le polymorphisme C677T du gène de la MTHFR (20.7% vs 13.7%) et le polymorphisme -455G/A du gène bêta du fibrinogène (14.6% VS 2.9%) sont corrélés positivement avec l'AOMI d'une part, et avec l'élévation des taux plasmatique du fibrinogène pour le polymorphisme -455G/A du gène bêta du fibrinogène et l'hyperhomocystéinémie pour le polymorphisme C677T du gène de la MTHFR d'autre part.

Conclusion
Cette étude nous a permis de déterminer la prévalence des différents facteurs de risques et d'avoir une idée sur le statut génétique des artéritiques dans notre population jusque-là méconnus.

abstract 1 assise de genetique 2017.docx

P447 : Diagnostic Moléculaire des Neuropathies Périphériques Héréditaires par Séquençage haut débit : A propos d'une cohorte marseillaise.

Auteurs :

Juliette Bacquet (1), Valérie Delague (2), Shahram Attarian (3), Frédérique Audic (4), Brigitte Chabrol (4), Nicolas Levy (1), Emilien Delmont (3), Emmanuelle Salort-Campana (3), Amandine Boyer (1), Nathalie Martini (1), Tanya Stojkovic (5), Annabelle Chaussenot (6), Nathalie Bonello-Palot (1)

1. Département de Génétique médicale, Hôpital Timone enfants, Assistance-Publique Hôpitaux de Marseille, Marseille, France
2. INSERM UMR-S 910, Génétique médicale et Génomique fonctionnelle, Faculté de Médecine, Marseille, Marseille, France
3. Centre de référence des maladies neuromusculaires, Hôpital Timone Adultes, Assistance-Publique Hôpitaux de Marseille, Marseille, France
4. Centre de référence des maladies neuromusculaires, Hôpital Timone enfants, Assistance-Publique Hôpitaux de Marseille, Marseille, France
5. Centre de référence des maladies neuromusculaires, AP-HP PITIE-SALPETRIERE, PARIS 13, Paris, France
6. Service de Neurologie, CHU Hopital de l'Archet 2, NICE, Nice, France

Mots clefs : maladie de Charcot-Marie-Tooth, séquençage haut débit, nouveaux variants

Résumé :

Les Neuropathies Périphériques Héréditaires (NPH) sont caractérisées par une grande hétérogénéité phénotypique et génotypique avec, à ce jour, plus de 80 gènes associés. Devant cette hétérogénéité génétique, la stratégie de diagnostic moléculaire par séquençage de dernière génération semble être la plus adaptée à cette maladie.
Nous avons réalisé un séquençage haut débit (NGS) à partir d'un panel de 81 gènes impliqués dans les NPH dans une cohorte de 123 patients non apparentés. 23% patients présentaient une CMT1, 53% une CMT2, 8% une CMT spinale, 7% une HSAN, 6.5% une CMT intermédiaire.
Nous avons trouvé un ou plusieurs variants potentiellement pathogènes chez 60 patients soit 49% de diagnostic moléculaire établi toute forme de neuropathies confondues. 27 (34%) de ces variants étaient rapportés dans la littérature en lien avec un diagnostic de NPH. Les gènes les plus fréquemment mutés dans notre cohorte sont par ordre de fréquence: *MFN2, NEFL, GAN, SH3TC2 et GDAP1*. 21% des cas sporadiques ont pu obtenir un diagnostic moléculaire par NGS contre 69% des cas familiaux autosomiques dominants. Nous avons complété cette étude par la recherche de CNV à l'aide d'un logiciel ExomeDepth. Nous avons identifié 3 duplications dans notre panel de 81 gènes chez 3 patients et ainsi augmenter le pourcentage de rendu diagnostic à 50%. Dans cette étude, le diagnostic moléculaire par séquençage haut débit nous a permis de rendre un diagnostic dans 3 fois plus de cas que par séquençage direct (Odds ratio = 3.15, p=0.0017, IC[1.542-6.434]) en comparant avec une série de 56 patients analysés dans notre laboratoire par stratégie de gène en cascade par méthode sanger. Nous avons augmenté notre taux de diagnostic moléculaire à 43% pour les CMT1 et 11% pour les CMT2.
La stratégie diagnostic par NGS permet l'identification de mutation causale dans un délai plus court et de façon moins couteuse. Actuellement, le NGS, dans ce type de maladie, est un outil indispensable dont l'inconvénient est la génération d'un nombre important de variants dont la pathogénicité n'est parfois pas clairement établie. Cet outil utilisé en routine nécessite donc une étroite collaboration entre biologistes, cliniciens et chercheurs afin de potentialiser les résultats qui en découlent.

abstractassises-1.pdf

P448 : L'intérêt de la recherche du polymorphisme -590C/T du gène de l'interleukine 4 et du dosage de l'IgE totale dans le cadre de l'asthme allergique

Auteurs :

Karima Sifi (1), Sabah Hanachi (1), Iness Dahmani (2), Mohamed Bougrida (3), Karima Benmebarek (4), Noredine Abadi (5)

1. Laboratoire de recherche et de biologie moléculaire faculté de médecine université Salah Boubnider Constantine, CHU Ben badis de Constantine Algérie, Faculté de médecine université Salah Boubnider Constantine, Constantine, Algérie
2. Laboratoire de biochimie, laboratoire de recherche de biologie et de génétique moléculaire, unversité 1 Constantine, Constantine , Algérie
3. Laboratoire de physiologie CHU Benbadis de Constantine, Faculté de médecine université salah Boubnider constantine , Constantine, Algérie
4. Laboratoire de recherche et de biologie moléculaire faculté de médecine université Salah Boubnider Constantine, laboratoire de biochimie CHU Ben badis de Constantine Algérie, Faculté de médecine université Salah Boubnider Constantine, Constantine, Algérie
5. Laboratoire de biochimie, laboratoire de recherche de biologie et de génétique moléculaire, Faculté de médecine université 3 de constantine, CHU de Constantine, Constantine, Algérie

Mots clefs : Asthme allergique,polymorphisme -590C/T du gène de l'interleukine 4, IgE totale

Résumé :

Introduction
L'asthme est une maladie complexe résultant de l'interaction de multiples facteurs génétiques et environnementaux. De nombreuses études ont montré une association entre le polymorphisme
-590C/T du gène de l'IL- 4, les taux sériques de l'IgE totale et le risque d'asthme allergique. Qu'en est -il de cette association dans la population Algérienne ?
Les objectifs de notre étude étaient de :
-déterminer les fréquences alléliques et génotypiques du polymorphisme -590C/T de l'IL4 et les taux sériques de l'IgE totale chez des témoins et des patients présentant un asthme allergique.
-déterminer l'influence de ce polymorphisme et des taux sériques de l'IgE totale sur la survenu de l'asthme allergique.
Patients et méthodes
Notre étude a porté sur 80 témoins et 80 asthmatiques. Le dosage sérique de l'IgE totale a été déterminé par une technique immuno-enzymatique et la recherche du polymorphisme -590C/T de l'IL-4 a été réalisée par PCR /Digestion par l'enzyme de restriction BsmF1.Un consentement éclairé a été obtenu de tous les patients et témoins.
Résultats
Notre étude a porté sur 80 témoins et 80 asthmatiques des deux sexes. L'âge des témoins était 25.94 ± 16.32 ans et celui des patients de 33.60 ± 18.77 ans. Les taux des IgE totales étaient de (26,48±8.90) UI/ml chez les témoins et (578,64±216,30) UI/ml chez les patients avec une p-value à 0.0000**. Afin de déterminer un lien possible entre le polymorphisme -590C/T de l'IL-4 , les taux de l'IgE totale et le risque d'asthme allergique ,des odds ratio avec un intervalle de confiance ont été calculés. Les odds ratios pour les génotypes -590T/T vs - 590C/C de l'IL-4 et -590T/T vs - 590C/T de l'IL-4 étaient de 3.63(1.16-11.63) et 2.48 (0.91-6.95) avec des p-value de 0.01 et 0.05 respectivement. Chez les patients, les génotype -590 C/T de l'IL-4 , -590T/T de l'IL-4 étaient associés à des taux d'IgE totales de (631.35±187.35) UI/ml et (> 1000) UI/ml respectivement , donc plus élevés que dans le génotype sauvage -590 C/C de l'IL-4 avec une P-value égale à 0.0000**.
Conclusion
Nos résultats nous ont permis d'affirmer l'existence d'une association positive entre les génotypes TT et CT du polymorphisme -590 C/T de l'IL4 et la surproduction de l'IgE totale sérique un des marqueurs biologiques de l'inflammation chez l'asthmatique. Cette association a été rapportée précédemment par plusieurs études.

abstract 1 fini assises de génétique.docx

P449 - DPC : Implication des mutations tronquantes FLNC et BAG3 chez des patients avec cardiomyopathie dilatée

Auteurs :

Alexandre JANIN (1, 2), Karine NGUYEN (3), Gilbert HABIB (4), Claire DAUPHIN (5), Valérie CHANAVAT (1), Patrice BOUVAGNET (6), Romain ESCHALIER (5), Nathalie STREICHENBERGER (7), Philippe CHEVALIER (8), Gilles MILLAT (1, 2)

1. Laboratoire de Cardiogénétique Moléculaire, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
2. Institut NeuroMyoGène, CNRS UMR 5310, INSERM U1217, Université de Lyon, Lyon, France
3. Département de Génétique Médicale, CHU Timone enfants, Marseille, France
4. Département de Cardiologie, CHU Timone adultes, Marseille , Marseille, France
5. Service de Cardiologie, Centre Hospitalier Gabriel-Montpied, Clermont-Ferrand, France
6. Service de Cardiologie C, Hôpital Cardiologique Louis Pradel, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
7. Laboratoire d'Anatomo-Cyto-Pathologie, Centre de Biologie et Pathologie Est, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
8. Centre de référence des troubles du rythme héréditaires, Hôpital Cardiologique L. Pradel, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

Mots clefs : Cardiomyopathie dilatée, filamine C, FLNC, BAG3, myopathies myofibrillaires

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).
La CMD est une maladie du muscle cardiaque, caractérisée le plus souvent par une dilatation du ventricule gauche et une altération de sa contractilité, globale ou segmentaire. Les patients peuvent souffrir d'insuffisance cardiaque ou d'arythmies. Le risque de mort subite par troubles du rythme ventriculaire est élevé. La cardiomyopathie dilatée familiale représenterait de 30 à 50% des cardiomyopathies dilatées. A ce jour, plus de 40 gènes morbides (codant principalement des protéines du sarcomère, du cytoquelette ou de l'enveloppe nucléaire) sont impliqués dans cette pathologie. Parmi ceux-ci, les gènes décrits dans la littérature comme étant les plus prévalents sont les gènes *TTN* (variants tronquants, 15%), *LMNA* (6%), *MYH7* et *TNNT2*.
Notre étude était axée sur une cohorte de 222 patients porteurs de CMD. Cette cohorte a été analysée par séquençage NGS (NextSeq500, Illumina) à partir d'un panel constitué de 48 gènes impliqués dans les cardiomyopathies (Roche NimbleGen). L'analyse bio-informatique a été effectuée en utilisant un pipeline développé par Sophia Genetics.
Les résultats obtenus montrent une couverture parfaite des régions ciblées (séquences codantes + 30 bp) avec une profondeur minimale pour chaque nucléotide supérieure à 30X. Parmi les variations pathogènes ou probablement pathogènes identifiées, de nombreuses variations tronquantes ont pu être détectées (63 patients; 28,4% de la cohorte). La plupart d'entre elles ont été identifiées, comme attendu, sur le gène *TTN* (29 cas index; 13,1%). De façon plus surprenante, 17 variants tronquants ont été aussi identifiés sur des gènes habituellement mutés dans des cas de myopathies myofibrillaires: 10 variations *FLNC* (4,5% de la cohorte) et 7 variations *BAG3* (3,2% de la cohorte). Ces résultats confirment les récents travaux de l'équipe d'Ortiz-Genga et *al.* (J Am Coll Cardiol. 2016 68:2440-2451).
Cette étude confirme que les variants troquants affectant les gènes *FLNC* et *BAG3* sont fréquemment associées à des cas de CMD et suggère que ces 2 gènes peuvent être considérés parmi les gènes les plus prévalents chez des patients porteurs de CMD. L'utilisation de ce panel NGS de 48 gènes, intégrant de façon systématique ces 2 gènes mais également bien évidemment le gène *TTN*, permet d'augmenter de façon très significative la sensiblité du diagnostic moléculaire. L'identification de ces nouveaux variants responsables de CMD est cruciale pour mieux appréhender la physiopathologie de cette maladie, mais également pour permettre la mise en place d'un conseil génétique adapté pour les différents apparentés.

P450 - DPC : Implication du gène KCND3 dans le syndrome de repolarisation précoce

Auteurs :

Alexandre JANIN (1, 2), Samuel CHAUVEAU (3), Marianne TILL (4), Elodie MOREL (3), Philippe CHEVALIER (3), Gilles MILLAT (1, 2)

1. Laboratoire de Cardiogénétique Moléculaire, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
2. Institut NeuroMyoGène, CNRS UMR 5310, INSERM U1217, Université de Lyon, Lyon, France
3. Centre de référence des troubles du rythme héréditaires, Hôpital Cardiologique L. Pradel, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
4. Service de Cytogénétique, Centre de Biologie et Pathologie Est, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

Mots clefs : Repolarisation précoce, KCND3, séquençage haut débit, NGS

Résumé :

La repolarisation précoce est une anomalie électrocardiographique définie sur l'ECG standard par une élévation ≥ 0,1 mV (1 mm) de la jonction QRS-ST (point J) par rapport à la ligne iso-électrique avec une encoche ou un empâtement dans au moins deux dérivations contiguës inférieures ou latérales. Cette anomalie a longtemps été considérée comme une entité bénigne, mais est maintenant reconnue comme étant associée à des arythmies ventriculaires malignes et à la mort subite. Des formes familiales existent et les premières anomalies génétiques ont été identifiées essentiellement au sein des gènes codant des canaux ioniques: *KCNJ8, CACNA1C, CACNB2, CACNA2D1,* et *SCN5A*.
Une exploration moléculaire a été effectuée chez un patient sain de sexe masculin, âgé de 26 ans, sans antécendents familaux de mort subite, et qui a subit un arrêt cardiaque récupéré quelques heures après avoir joué au tennis. Lors de son admission aux urgences, l'ECG a montré un profil intermittent de repolarisation précoce. Des examens complémentaires ont permis d'exclure l'hypothèse d'une cardiomyopathie. L'ADN génomique de ce patient a été analysé par séquençage NGS (NextSeq500, Illumina) réalisées à partir d'un panel custom constitué de 48 gènes impliqués dans les arythmies cardiaques (Roche NimbleGen). L'analyse bio-informatique a été effectuée en utilisant un pipeline développé par Sophia Genetics.
Cette analyse moléculaire a uniquement permis de mettre en évidence une duplication de 1,23 Mb (chr 1: 111,772,409_113,005,539 bp (hg19)). Cette région contient 12 gènes codant des protéines référencés dans la base de données OMIM. Parmi ces 12 gènes, seule la duplication du gène *KCND3* semblait cliniquement pertinente étant donné que des mutations gain de fonction affectant ce gène avaient précédemment rapportées chez des patients ayant une arythmie cardiaque de type syndrome de Brugada. Une étude de ségrégation a été faite permettant de montrer qu'aucun des 2 parents n'était porteur de cette duplication. Parmi les apparentés testés, seule la fille du patient a été retrouvée comme porteuse de ce CNV. L'ECG de cette dernière a également montré un profil intermittent de repolarisation précoce.
Cette étude suggère que des mutations de type gain-de-fonction affectant le gène *KCND3* peuvent causées un syndrome de repolarisation précoce. Ceci sera à confirmer par l'exploration moléculaire d'autres patients présentant un phénotype ECG similaire. Cette étude met également en évidence le bénéfice médical apporté par l'utilisation de panels NGS qui peuvent détecter, avec un même pipeline bio-informatique, des mutations ponctuelles, des indels, et des CNV. L'identification de nouveaux gènes ou de nouveaux variants responsables d'arythmies cardiaques est cruciale pour mieux appréhender la physiopathologie de ces affections, les stratégies thérapeutiques à mettre en place mais également pour permettre la mise en place d'un conseil génétique adapté.

P451 : Les apports du NGS dans le diagnostic moléculaire des alpha-dystroglycanopthies

Auteurs :

Céline Bouchet Seraphin (1), Malika Chelbi (2), Sylvie Alglave (2), Marion Reocreux (2), Sandrine Vuillaumier Barrot (3), Catherine Boileau (2), Nathalie Seta (4)

1. Department of Biochemistry, APHP - Hôpital Bichat Claude Bernard, PAris, France
2. Department of Genetics, APHP - Hôpital Bichat Claude Bernard, Paris, France
3. Department of Biochemistry, APHP - Hôpital Bichat Claude Bernard, Paris, France
4. Department of Biochemistry, APHP - Hôpital Bichat Claude Bernard, paris, France

Mots clefs : alpha-dystroglycanopthies, NGS, POMT1, Glycosylation, diagnostic moleculaire

Résumé :

Introduction : Les alpha-dystroglycanopathies (a-DGpathies), anomalies de O-mannosylation de l'a-DG impliquant à ce jour 18 gènes (Bouchet-Seraphin et al. 2016) sont des maladies autosomiques récessives, rares, caractérisées par un spectre clinique très large ; formes fœtales de lissencéphalie de type II ou LIS II, Walker Warburg syndrome, dystrophies musculaires congénitales (DMC) ou maladies des ceintures (LGMD), sans corrélation génotype/phénotype apparente. L'arrivée du NGS, via l'étude d'un panel de gènes ciblés « glycosylation » a complètement modifié l'étude moléculaire de ces pathologies.
Matériels et méthodes : Le panel « glycosylation », technique Haloplex, utilisé comprend les 18 gènes des a-DGpathies, 27 gènes impliqués dans les Congenital Disorders of Glycosylation (CDG) et 4 gènes impliqués dans des formes cliniques proche de celles des a-DGpathies. Les données bio-informatiques sont analysées par 2 pipelines informatiques (CLCbio et Polydiag). Toutes les mutations identifiées en NGS sont confirmées par séquençage SANGER au laboratoire de Bichat ou dans des laboratoires référents. Entre 2015 et 2017, la recherche de mutations a été réalisée chez 107 patients « a-DGpathies » provenant de l'ensemble du territoire français.
Résultats : Un diagnostic moléculaire a été posé chez 47 (44%) de ces patients, concernant 16 gènes différents : 12 des 18 gènes connus dans les a-DGpathies (POMT1 (n=14), POMT2 et FKRP (n=5), B3GALNT2 (n=4), ISPD et POMGNT1 (n=3), POMGNT2, GMPPB et DPM3 (n=2), DAG1, TMEM5 et POMK (n=1) ; 1 gène des CDG (SLC35A2, n=1) ; et 3 gènes des pathologies avec recoupement clinique (ANO5, COL4A1, GRP56 (n=1)).
Le diagnostic moléculaire a pu être porté chez 77% des Lis II fœtales (n=21/27), et 32% des DMC et LGMD (n=26/80). Les 2 patients, bien que non apparentés, porteurs de mutations sur DPM3 partagent la même association de mutations, une mutation faux-sens associée à une délétion du gène, décelée via l'analyse des CNV (copy nombre variant) par NGS.
Discussion : L'étude simultanée d'un ensemble de gènes de glycosylation, par la technique NGS, permet un gain de temps considérable dans le diagnostic moléculaire des patients avec des temps de rendu pour des patients positifs inférieurs à 3 mois contre plusieurs années auparavant. Un diagnostic prénatal peut ainsi être proposé rapidement aux familles, en particulier pour celles avec une antériorité de Lis II fœtale. L'utilisation d'un panel « glycosylation » associant les gènes impliqués dans plusieurs types d'anomalies de glycosylation prend tout son sens, puisque, après DPM2 et DPM3, le gène SLC35A2 est impliqué chez un patient, renforçant la notion de passerelle entre CDG et a-DGpathies. Enfin, l'ajout sur le panel de quelques gènes de pathologies avec recoupement clinique peut permettre de re-orienter le diagnostic pour ces familles. L'arrivée des NGS a permis des avancées indéniables dans la pratique quotidienne mais nécessite des échanges clinico-biologiques renforcés.

abstract Assises genetiques 2018 (2).doc

P452 : Implication du gène FLNC dans les myopathies à corps réducteurs

Auteurs :

Alexandre JANIN (1, 2), Véronique MANEL (3), Gilles MILLAT (1, 2), Nathalie STREICHENBERGER (4)

1. Laboratoire de Cardiogénétique Moléculaire, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
2. Institut NeuroMyoGène, CNRS UMR 5310, INSERM U1217, Université de Lyon, Lyon, France
3. (3) Service d'Epileptologie Clinique, des Troubles du Sommeil et de Neurologie Fonctionnelle de l'Enfant, Hôpital Femme Mère Enfant, Hospices Civils de Lyon , Lyon, France
4. Laboratoire d'Anatomo-Cyto-Pathologie, Centre de Biologie et Pathologie Est, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

Mots clefs : FLNC, myopathies à corps réducteurs, filamine C, RBM, reducing body myopathy

Résumé :

We reported the case of an 8 year-old girl who was born at 37SA to Moroccan parents who are first cousins, with 3 older sisters and brothers in good health and no familial medical history. She developed at 10 months a psychomotor retardation with short and stiff neck, a progressive malignant scoliosis with axial and proximal muscle weakness, pelvic stiffness and shoulder girdles. She presents sleep apnea. An asymmetric hypertrophic cardiomyopathy is highlighted. No intellectual impairment is detected.
For the paraclinical examination, CK were slithly elevated (473 UI/L, N<170). Brain MRI was normal.
Muscle biopsy showed fascicular hypertrophic type I and II fibers with reducing bodies, and a predominancy of type I fibers and numerous type II atrophic fibers. Electronic microscopy revealed some intrafibrillar aggregates but no mitochondrial abnormality. Immunohistochemical and western blot studies of usual proteins involved in muscular dystrophies were normal. Collagen 6 expression in muscle tissue and cutaneous fibroblasts was normal. Study of glycogenolysis and glycolysis showed no abnormality. She had a normal karyotype and molecular analysis of *FHL1*, *LMNA*, *RYR1* and genes encoded for selenoprotein revealed no mutation.
To provide a molecular explanation to the muscular phenotype of the proband, genomic DNA sample was analyzed using a Next Generation Sequencing approach based on a panel of 48 cardiomyopathy-causing genes involved in cardiac and muscular diseases. A missense variation (NM_1458.4:c.3503G>A, p.Gly1168Asp) affecting *FLNC*, encoding filamin-C also known as actin-binding-like protein (ABPL) or filamin-2 (FLN2) was identified. This variation affects a highly conserved amino-acid located in the 10th repetitive immunoglobulin-like domain (R10) of the protein. The variation is not yet reported in molecular databases such as dbSNP, Exome Variant Server or ExAC. All tested softwares to predict the effect of the variation (GVGD, Mutation Taster, PolyPhen2, SIFT and UMD Predictor) suggest that this variation is likely pathogen. Proband's parents were tested for this variation and neither of whom carries the variation suggesting a *de novo* mutation.
To further investigate the potential pathogenic role of this variant of uncertain significance (VUS), an immunolabelling of filamin C was performed on muscular cross sections of the proband. This assay reveals large filamin C aggregates in muscular fibers, suggesting a pathogenic role of this variation.
Reducing body myopathies are usually observed in *FHL1* mutations. The first case of filamin C mutation revealed by reducing body myopathy is here reported.

P453 : Une anomalie de la glycosylation peut cacher une autre pathologie : expérience d'analyse d'exomes chez des patients suspects de CDG I.

Auteurs :

Sandrine VUILLAUMIER BARROT (1, 2), Thierry Dupré (3, 2), Arnaud Bruneel (3, 4), Sylvie Alglave (5), Malika Chelbi (5), Marion Reocreux (5), Céline Bouchet-Seraphin (3, 5), Isabelle Chantret (2), Stuart Moore (2), Pascale de Lonlay (6), Nathalie Seta (3)

1. Biochimie et Génétique, Hôpital Bichat-Claude Bernard, PARIS, France
2. INSERM U1149 CRB3, Université Denis Diderot, Paris 7, PARIS, France
3. Biochimie, Hôpital Bichat-Claude Bernard, PARIS, France
4. INSERM UMR-1193 , Université Paris-Sud, Châtenay-Malabry, France
5. Génétique, Hôpital Bichat-Claude Bernard, PARIS, France
6. centre de référence des maladies héréditaires du métabolisme, institut IMAGINE, Hôpital Necker-Enfants Malades, PARIS, France

Mots clefs : CDG, GLYCOSYLATION

Résumé :

Les anomalies congénitales de la glycosylation (CDG) représentent un groupe de maladies principalement autosomiques récessives lié à un défaut de N- (CDG I) ou de N- et O-glycosylation simultanément (CDG II). Des mutations sur plus de 50 gènes ont été décrites. Les manifestations cliniques sont dominées par des atteintes du système nerveux central associé ou non à des atteintes viscérales. Elles présentent une très grande variabilité aussi bien en termes de type d'atteinte que de sévérité. Le diagnostic débute normalement par un test de dépistage permettant de mettre en évidence un défaut de glycosylation de glycoprotéines sériques données. Dans un deuxième temps une étude moléculaire permet d'identifier le gène causal. Le nombre important de gènes et la mauvaise relation génotype/phénotype rendait jusqu'à peu le diagnostic moléculaire complexe et chronophage.
Un séquençage haut débit a été mis en place pour identifier le gène en cause. Dans un premier temps, un panel ciblé de 35 gènes de CDG (Nimbelgen) est réalisé sur Miseq. En absence d'identification de mutations sur ces gènes, un séquençage d'exome est alors réalisé. Depuis 2014, les patients ayant un dépistage positif de CDG ont bénéficié de cette nouvelle stratégie. Le panel « glycosylation » a permis de poser le diagnostic moléculaire pour 2/3 des patients. Le délai moyen de rendu du résultat pour ces patients a été de 5 mois.
Sur l'ensemble de la cohorte de CDG I (n=193), un exome a été réalisé pour 23 patients : 3 (13%) ont été non contributifs à ce jour ; 13 (56%) ont permis d'identifier des mutations causales sur des gènes de CDG ou apparentés dont 1 cas de fructosémie congénitale ALDOB, 1 cas PIGY et 2 patients en cours d'étude présentant des mutations sur des gènes reliés à la glycosylation mais non encore décrits dans cette pathologie (*SSR2 et MLEC);* 7 (30%) ont permis d'identifier des gènes non reliés au CDG mais pouvant expliquer la pathologie :
- 1 patient adulte présentant une ataxie et hypo-albuminémie sévère imputable à *APTX*,
- 2 patients présentant une encéphalopathie sévère progressive avec des maladies mitochondriales par déplétion de l'ADNmt liées à *POLG* et *Twinkle,*
- 1 patient présentant une acidose métabolique néonatale attribuable à *PDHX*,
- 3 patients présentant une épilepsie comme symptôme majeur, avec une mutation *de novo* sur 3 gènes d'épilepsie de transmission autosomique dominante: SCN2A, GABRA1 et KANSL1.
Si la positivité du test de dépistage du cas adulte peut être expliquée par une consommation chronique d'alcool, elle reste inexpliquée pour les 6 autres cas pédiatriques.
Nos résultats montrent qu'une anomalie biochimique de glycosylation identifiée ne doit pas exclure la recherche d'autres pathologies possibles : maladie mitochondriale si phénotype sévère et évolutif, recherche ciblée de gènes responsables d'ataxie, d'épilepsie ou exome en trio permettant l'identification de pathologies à transmission dominante *de novo*.

P454 - DPC : Premier diagnostic moléculaire au Maroc d'une cardiomyopathie hypertrophique par séquençage haut débit.

Auteurs :

Najlae ADADI (1), Abdelali Zrhidri (1), Ibtissam Fellat (2), Fatima Zahra Laarabi (3), Jaber Lyahyai (1), Ilham Ratbi (1)

1. Centre de Génomique Humaine, Faculté de Médecine et Pharmacie, Université Mohammed V, Rabat, Maroc
2. Service de Cardiologie B, Maternité Souissi, CHU Ibn Sina, Rabat, Maroc
3. Département de Génétique Médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Maroc

Mots clefs : Cardiomyopathie hypertrophique, panel, séquençage à haut débit, Maroc.

Résumé :

La Cardiomyopathie hypertrophique (CMH) est définie comme une hypertrophie ventriculaire gauche (HVG) asymétrique (à prédominance septale), d'origine génétique, s'accompagnant inconstamment d'une obstruction à l'éjection. Sa prévalence a été estimée entre 0,02 et 0,2 % de la population générale. La CMH est la principale cause de mort subite chez le sportif de moins de 35 ans. Elle est de transmission autosomique dominante, et caractérisée par une grande hétérogénéité génétique avec, au moins, 16 gènes en cause. Nous rapportons l'observation d'une famille marocaine atteinte de CMH qui a bénéficié pour la première fois au Maroc d'un diagnostic moléculaire par séquençage à haut débit.
La patiente est âgée de 47 ans, suivie pour une CMH depuis 25 ans avec plusieurs cas dans sa famille de CMH et de morts subites. Une analyse moléculaire par panel avec le système ION PGM de chez ION TORRENT, mis en place au sein du laboratoire de Département de Génétique Médicale de l'Institut National d'Hygiène depuis 2016 a été réalisé. Le panel utilisé comprend 8 gènes (*KCNQ1*, *KCNH2*, *SCN5A*, *RYR2*, *MYBPC3*, *MYH7*, *LMNA*, *MYH6*), impliqués dans qui représentent 80% des CMH. La mutation délétère c.2334C>G (p.Asp778Glu) du gène *MYH7* a été identifiée chez la patiente à l'état hétérozygote. Ce diagnostic moléculaire nous a permis d'offrir un conseil génétique adéquat et de proposer un diagnostic moléculaire de certitude aux apparentés symptomatiques et un diagnostic présymptomatique aux apparentés sains à risque qui le souhaitent.

Cardio abstract.docx

P455 : Identification par séquençage ciblé à haut débit d'une nouvelle mutation d'un site d'épissage du gène SERAC1 responsable d'un syndrome MEGDEL (3-methylglutaconic aciduria with deafness, encephalopathy and Leigh-like)

Auteurs :

Sarah Snanoudj-Verber (1, 2), Patrick Mordel (2), Cécile Schanen (2), Quentin Dupas (2), Mikael Jokic (3), Alina Arion (4), Marion Gérard (1), Marie-Hélène Read (2), Stéphane Allouche (2)

1. Service de génétique, Centre Hospitalo-Universitaire de Caen, Caen, France
2. Laboratoire de biochimie, Centre Hospitalo-Universitaire de Caen, Caen, France
3. Service de réanimation médico-chirurgicale pédiatrique, Centre Hospitalo-Universitaire de Caen, Caen, France
4. Service de pédiatrie médicale, Centre Hospitalo-Universitaire de Caen, Caen, France

Mots clefs : SERAC1, MEGDEL, maladie mitochondriale, acidurie 3-methylglutaconique, mutation d'épissage

Résumé :

Introduction 3-methylglutaconic aciduria is a rare but discriminative feature in inborn errors of metabolism disorders(1). Among those disorders, MEGDEL is an autosomal recessive syndrome defined as 3-MEthylGlutaconic aciduria with Deafness, Encephalopathy and Leigh-like syndrome on magnetic resonance imaging (MRI), due to mutations in the *SERAC1* gene(2). So far, only about 34 patients and 27 mutations have been reported in the literature.
Patient and methods We studied a patient who presented with convulsive encephalopathy, 3-methylglutaconic aciduria, deafness, bilateral T2 hypersignals of the putamen and the thalami, and brain atrophy on brain MRI, psychomotor retardation, neurological regression, dystonia, failure to thrive, microcephaly, and optic atrophy. This multi-system defect pointed towards a mitochondrial disorder, but with no OXPHOS deficiency detected in fibroblasts. The patient passed away at 8 years of age with no molecular diagnosis. We analyzed nuclear genes involved in mitochondrial function using an AmpliSeq™ panel on an Ion PGM™ sequencer.
Results Two mutations were identified in the SERAC1 gene in the same region but on different amplicons: a pathogenic nonsense substitution in exon 4, c.202C > T, resulting in a premature stop codon (p.Arg68*), and a novel mutation at a canonical splicing site upstream exon 4 (c.129-1G > C). mRNAs sequencing showed that the splice site mutation resulted in exon 3 skipping. Immunocytochemical experiments performed showed a major decrease of SERAC1 expression in the fibroblasts of the patient compared to controls.
Conclusion Here, we report a patient in which we identified two mutations in trans in the *SERAC1* gene using a targeted NGS nuclear gene panel for mitochondrial diseases. Retrospectively, all the features presented by the patient were described in other individuals affected with MEGDEL, including 3-methylglutaconic aciduria, deafness, encephalopathy, and images compatible with a Leigh-like syndrome on MRI. Our study identified a novel splice site mutation in SERAC1 gene, and highlights the value of phenotype-oriented gene sequencing.

(1) Wortmann, S. *et al.* 3-Methylglutaconic aciduria--lessons from 50 genes and 977 patients. *J Inherit Metab Dis.* **36**, 913-21 (2013).
(2) Wortmann, S. *et al.* Mutations in the phospholipid remodeling gene SERAC1 impair mitochondrial function and intracellular cholesterol trafficking and cause dystonia and deafness. *Nat. Genet.* **44,** 797–802 (2012).

Abstract #12654.docx

P456 : Etude rétrospective de 73 patients avec anomalies de la segmentation vertébrale : démarche diagnostique et investigations génétiques

Auteurs :

Mathilde LEFEBVRE (1, 2), Anne Dieux-Coselier (3), Genevieve Baujat (4), Elise Schaefer (5), Judith Saint Onge (1), Christine Francannet (6), Anne Bazin (7), Lucile Pinson (8), Tania Attie-Bittach (4), Clarisse Baumann (9), Melanie Fradin (10), Genevieve Pierquin (11), Sophie Julia (12), Chloé Quelin (10), Berenice Doray (13), Sylvie Berg (13), Catherine Vincent-Delorme (3), Laetitia Lambert (14), Didier Lacombes (15), bertrand Isidor (16), Nicole Laurent (17), Roume Joelle (18), Patricia Blanchet (19), Sylvie Odent (10), Nathalie Leporrier (20), Carine Abel (21), Karine Segers (11), Fabienne Giuliano (22), Emmanuelle Ginglinger (23), Angelo Selicorni (24), Alice Goldenberg (25), Salima El Chehadeh (5), Benedicte Demeer (26), Christel THAUVIN-ROBINET (1, 2), Alain Verloes (27), Valérie Cormier-Daire (4), Jean-Baptiste Rivière (28), Laurence FAIVRE (1, 2), Julien THEVENON (1, 29)

1. Inserm – UB UMR 1231 GAD « Génétique des Anomalies du Développement », Dijon, France , Université de Bourgogne Franche Comté, dijon, France
2. Centre de Génétique et Centre de Référence Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs de l'Est, FHU-TRANSLAD, CHU de Dijon, dijon, France
3. Centre de génétique, CHRU de Lille, lille, France
4. Centre de génétique, Hôpital Necker, Paris, France
5. Centre de génétique, CHRU de Strasbourg, Strasbourg, France
6. Centre de génétique, CU Clermont-Ferrand, Hopital d'Estaing, Clermont Ferrand, France
7. Centre de génétique, Hôpital de Pontoise, Pontoise, France
8. Centre de génétique, CHU de Montpellier, Montpellier, France
9. Centre de génétique, Hopital Robert Debré, Paris, France
10. Centre de génétique, CHU de Rennes, Rennes, France
11. Centre de génétique, CHU Sart Tilman, Liège, Belgique
12. Centre de génétique, CHU de Toulouse, Toulouse, France
13. Centre de génétique, CHU Saint Denis, La Réunion, France
14. Centre de génétique, CHU de Nancy, Nancy, France
15. Centre de génétique, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France
16. Centre de génétique, CHU de Nantes, Nantes, France
17. Service d'Anatomie et Cytologie Pathologique, CHU de Dijon, dijon, France
18. Centre de génétique, CH de Poissy, Poissy, France
19. Centre de génétique, CHU de Montpellier, Clermont-Ferrand, France
20. Centre de génétique, CHU de Caen, caen, France
21. Centre de génétique, CHU de Lyon, Lyon, France
22. Centre de génétique, CHU de Nice, Nice, France
23. Centre de génétique, CH de Mulhouse, Mulhouse, France
24. Centre de génétique, Université de Milan, Milan, Italie
25. Centre de génétique, CHU de Rouen, rouen, France
26. Centre de génétique, CHU d'Amien, Amien, France
27. Centre de génétique, Hopital Robert Debré, paris, France
28. Inserm – UB UMR 1231 GAD « Génétique des Anomalies du Développement », Dijon, France , Université de Bourgogne Franche Comté, Dijon, France
29. Service de Génétique et procréation, CHU Grenoble-Alpes, Grenoble, France

Mots clefs : dysostoses spondylocostales, anomalie de segmentation vertebrale, SHD, panel, exome,

Résumé :

Des anomalies de segmentation vertébrales (ASV) sont régulièrement identifiées lors de l'exploration de syndromes malformatifs. La détection d'ASV multiples (ASV-M) représente une entité clinique plus rare et fait fréquemment évoquer le cadre des dysostoses spondylo-constales (DSC). Les bases moléculaires des ASV-M sont mal définies et cela est en partie lié à des difficultés de classification nosologique. Les gènes actuellement identifiés appartiennent principalement à la voie Notch qui est fondamentale lors de la somitogénèse. Nous décrivons les corrélations génotype-phénotypes identifiées lors du séquençage des gènes connus dans les ASV-M et rapportons les variations identifiées dans une cohorte de patients présentant des ASV –M afin d'établir un arbre décisionnel destiné aux cliniciens.

Les données cliniques et moléculaires de 74 patients présentant tous des ASV-M associées ou non à des anomalies viscérales ont été étudiées. Un séquençage ciblé des 5 gènes connus de DSC *(DLL3, MESP2, LFNG, HES7* et *TBX6*) a été réalisé systématiquement chez les 48 premiers patients et un séquençage d'exome (SHD-E) chez 28 patients.

Des diagnostics ont pu être réalisés chez 13 patients comprenant des variations autosomiques récessives dans les 5 gènes de DSC identifiées par séquençage ciblé pour 11 patients (5 patients présentaient des variations bialléliques de *TBX6*, 2 de *LFNG* et 2 de *DLL3*, 1 de *MESP2* et 1 de *HES7*). Parmi les 5 patients présentant des variations bialléliques de *TBX6*, nous avons pu identifier un spectre phénotypique allant de la scoliose congénitale aux DSC, les formes les plus modérées étant retrouvées chez les patients présentant une délétion 16p11.2 (comprenant *TBX6*) associée à un haplotype fréquent récemment décrit et les formes les plus sévères à des mutations faux-sens au sein du site actif de *TBX6*. Le SHD-E a permis 2 diagnostics différentiels de maladies autosomiques récessives : un syndrome des synostoses spondylo-carpo-tarsiennes (*FLNB*) et un syndrome de Klippel-Feil (*MEOX1*). Le rendement du panel de gènes comprenant les 5 gènes de DSC était de 11/74 (14.5%) dans la cohorte globale mais de 8/10 (80%) dans le sous-groupe répondant strictement aux critères diagnostiques des DSC.

Le bilan étiologique des patients présentant des ASV-M doit être guidé par leur description clinique. Du fait de la complexité génétique de ces entités, nous proposons la réalisation du panel des 5 gènes responsables de DSC uniquement chez les patients répondant strictement aux critères des DSC. Dans les autres cas, une CGH-array à la recherche d'une délétion 16p11.2 devrait être réalisée en premier lieu suivie d'un séquençage complet de *TBX6* en cas de délétion. Dans le sous-groupe des patients présentant des ASV-M thoraciques et asymétriques, aucune variation causale n'a été identifiée. Les bases moléculaires des ASV-M restent mal déterminées et des architectures génétiques complexes doivent être envisagées.

DSC_v2.docx

P457 : Quarante-cinq ans de maladie de Pompe en France : aspects moléculaires, épidémiologiques et corrélations génotype-phénotype à partir des données du registre national

Auteurs :

Claudio Semplicini (1), Pascaline Létard (2), Marie De Antonio (3), Françoise Bouhour (4), Andoni Echaniz-Laguna (5), David Orlikowski (6), Sabrina Sacconi (7), Emmanuelle Salort-Campana (8), Guilhem Solé (9), Fabien Zagnoli (10), Nadjib Taouagh (11), Barbara Perniconi (11), Dalil Hamroun (12), Roseline Froissart (13), Catherine Caillaud (14), Pascal Laforêt (15, 16)

1. Department of Neurosciences, Azienda Ospedaliera Di Padova, Podavo, Italie
2. Laboratoire de Biochimie Métabolomique et Protéomique, Hôpital Necker Enfants Malades, AP-HP , Paris, France
3. Centre de référence des maladies neuromusculaires, CHU Henri-Mondor, AP-HP, Créteil, France
4. Service ENMG et Pathologies Neuromusculaires, Hôpital Neurologique Pierre Wertheimer, Hospices civils de Lyon, Bron, France
5. Département de neurologie, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Hôpital de Hautepierre, Strasbourg, France
6. Service de Réanimation médicale et unité de ventilation à domicile, centre de référence neuromusculaire GNHM, CHU Raymond Poincaré, AP-HP, Garches, France
7. Université Cote Azur, Centre de référence des maladies neuromusculaires et SLA, Hôpital Archet 1, Nice, France
8. Centre de référence des maladies neuromusculaires et de la SLA, Hôpital de la Timone, Aix-Marseille Université, Marseille, France
9. Centre de référence des maladies neuromusculaires, CHU de Bordeaux, Hôpital Pellegrin, Bordeaux, France
10. Service de Neurologie, CHU de la Cavale Blanche, Brest, France
11. Institut de myologie, Hôpital La Pitié-Salpétrière, AP-HP, Paris, France
12. Plateforme Banques de données, registres et cohortes, CHU de Montpellier, Montpellier, France
13. Centre de biologie et pathologie Est, Hospices civils de Lyon, Bron, France
14. Laboratoire de Biochimie Métabolomique et Protéomique, Hôpital Necker Enfants Malades, AP-HP, Paris, France
15. Centre de référence des maladies neuromusculaires Nord-Est-Ile de France, Service de Neurologie, CHU Raymond-Poincaré, AP-HP, Garches, France
16. INSERM U1179, END-ICAP, équipe biothérapies des maladies du système neuromusculaire, Université Versailles Saint-Quentin-en-Yvelines, Montigny-le-Bretonneux, France

Mots clefs : maladie de Pompe, glycogénose de type 2, mutations GAA, forme non classique, épidémiologie, génotype, phénotype, corrélations, registre national français, cohorte nationale

Résumé :

La maladie de Pompe ou glycogénose de type 2 est une maladie lysosomale à transmission autosomique récessive causée par des mutations du gène *GAA* entrainant un déficit en α-glucosidase acide (GAA). Le spectre clinique de la maladie s'étend de la forme infantile précoce (dite classique) caractérisée par une atteinte multisystémique rapidement fatale jusqu'à la forme adulte d'apparition tardive à type de myopathie des ceintures. Le but de ce travail était d'identifier tous les patients avec une forme non classique de maladie de Pompe diagnostiqués en France depuis 1970 afin de décrire les caractéristiques cliniques et moléculaires de cette large cohorte nationale. Ceci a été réalisé grâce au recueil des données des deux principaux laboratoires français réalisant le diagnostic biochimique et moléculaire de cette pathologie (Paris et Lyon), mais aussi grâce au registre français de la maladie de Pompe créé en 2004 et visant à répertorier tous les patients avec maladie de Pompe suivis et pris en charge en France.

246 patients (130 femmes et 116 hommes) avec un âge moyen au diagnostic de 43,1 ans ont été inclus. 83 variants pathogènes ont été identifiés sur le gène *GAA* dont 28 nouvelles mutations. Ces variants étaient répartis sur l'ensemble du gène et comprenaient des mutations faux-sens (n=41) et non-sens (n=8), des mutations altérant l'épissage (n=14), des mutations frameshift (n=15), des délétions sans décalage du cadre de lecture (n=4) et une mutation du codon d'initiation. La mutation commune c.-32-13T > G a été détectée chez 151 des 170 cas index, soit une fréquence allélique de 48,1%. Les autres mutations récurrentes incluaient la délétion de l'exon 18 (7,5%), les mutations faux-sens c.1927G > A/p.Gly643Arg (3,7%) et c.655G > A/p.Gly219Arg (2,8%), ainsi que la délétion c.525del/p.Glu176fs*15 (2,5%).

D'après nos données, l'incidence de la maladie de Pompe dans sa forme non classique en France peut être estimée à environ 1/80 000. Concernant les corrélations génotype-phénotype dans les formes non classiques, il n'existe pas de corrélation franche entre le phénotype clinique et les mutations causales. Nous avons constaté que les patients porteurs de la mutation commune c.-32-13T > G (n=131) avait un âge de début de la maladie plus tardif que les 18 patients dépourvus de cette mutation (36,2 ans ± 13,9 vs 24,7 ans ± 14,8 ; $p < 0,01$). Cependant, les premiers symptômes de la maladie apparaissaient à des âges parfois très différents au sein de groupes de patients ayant un génotype identique.

Au final, nous rapportons ici les données moléculaires et épidémiologiques de la plus grande cohorte de patients avec une forme non classique de maladie de Pompe, à travers une étude nationale sur plus de 40 ans. Malgré la grande prévalence de la mutation commune, la variabilité clinique et moléculaire et les difficultés à établir des corrélations génotype-phénotype suggèrent la nécessité d'autres études afin d'identifier de potentiels facteurs modificateurs.

Abstract Assises Génétique Nantes 2018 P.Létard.pdf

P458 : A propos de 24 cas de syndromes d'Hermansky-Pudlak types 3, 5 et 6 ; une forme modérée liée à des mutations du même complexe protéique BLOC-2.

Auteurs :

Vincent Michaud (1), Eulalie Lasseaux (1), Claudio Plaisant (1), Pennamen Perrine (1), Fanny Morice-Picard (2), Benoit Arveiler (1)

1. Génétique médicale, CHU Bordeaux, Bordeaux, France
2. Dermatologie Pédiatrique, CHU Bordeaux, Bordeaux, France

Mots clefs : Syndrome d'Hermansky-Pudlak, Albinisme oculo-cutané, Biogénèse des mélanosomes

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. Dix 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 complexe protéique BLOC-2 est formé des trois protéines HPS3, HPS5 et HPS6 et intervient dans la biogénèse des LRO.
Les HPS de type 3, 5 et 6 sont décrits comme étant des formes plus modérées par rapport aux types 1 et 4 dans lesquels une surmortalité, liée aux complications pulmonaires, est observée. Nous rapportons ici 2 cas d'HPS-3, 10 cas d'HPS-5 et 12 cas d'HPS-6. Les 24 patients ont été analysés par séquençage nouvelle génération sur un panel comprenant 19 gènes d'albinisme syndromique et non syndromique. Dans cette série comprenant 15 enfants et 9 adultes avec un sex ratio de 1, une consanguinité est retrouvée dans 69% des cas (11/16). L'hypopigmentation est généralement modérée avec des cheveux bruns dans 61% des cas (11/18), une peau blanche à brune avec tendance à pigmenter et la majorité d'iris couleur brune. L'atteinte ophtalmologique est, en revanche, très constante. Seulement 5 patients présentent des ecchymoses ou saignements faciles mais sans conséquence majeure. Pour un patient, une anomalie de l'agrégation plaquettaire est notée sans détail plus précis. Aucun signe pulmonaire ni d'anomalie de développement n'est rapporté et seulement 2 patients présentent des troubles digestifs de type colopathie fonctionnelle.
L'analyse moléculaire a permis de trouver 25 nouvelles mutations dont 3 grandes délétions. Seulement 7 mutations sont rapportées dans la base de données gnomAD, à une fréquence inférieure à 0,01% et sans homozygote rapporté. On retrouve 17 mutations tronquantes, 10 mutations faux-sens, 2 mutations d'épissage et 3 délétions. La ségrégation a pu être établie pour 14 patients et était concordante.
La description phénotypique de cette série est en accord avec les cas déjà publiés à savoir une forme modérée de la pathologie sans complication. La synthèse de tous ces cas permet de mieux définir le phénotype lié aux mutations d'*HPS3*, *HPS5* ou d'*HPS6*. Il ressort ici que l'atteinte des protéines d'un même bloc protéique entraine un phénotype similaire.
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 formes modérées d'HPS dans le cas d'albinisme oculaire sans hypopigmentation franche.

Résumé HPS Assises Génétique 2018.docx

P459 - DPC : Primary carnitine deficiency presenting as familial hypertrophic cardiomyopathy and sudden cardiac death: a treatable disorder identified through exome sequencing

Auteurs :

Najlae ADADI (1), Najim Lahrouchi (2), L.M Lodder (2), Maria Mansouri (1), Leila Zniber (3), Rafik Tadros (2), SB Clur (4), KY van Spaendonck-Zwarts (5), AV Postma (6), Abdelaziz Sefiani (7), Ilham Ratbi (1), Connie Bezzina (2)

1. Centre de Génomique Humaine, Faculté de Médecine et Pharmacie, Université Mohammed V, Rabat, Maroc
2. Department of Clinical and Experimental Cardiology, Academic Medical Center, University of Amsterdam, Amsterdam, Pays-Bas
3. Centre de cardiologie, CHU Ibn Sina, Rabat, Maroc
4. Department of Pediatric Cardiology, Emma Children's Hospital, Academic Medical Center, University of Amsterdam, Amsterdam, Pays-Bas
5. Department of Clinical Genetics, Academic Medical Center, University of Amsterdam, Amsterdam, Pays-Bas
6. Department of Anatomy, Embryology & Physiology, Academic Medical Center, University of Amsterdam, Amsterdam, Pays-Bas
7. Département de Génétique Médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Maroc

Mots clefs : Primary carnitine deficiency, whole exome sequencing, genetics, hypertrophic cardiomyopathy, diagnostic methods

Résumé :

Pediatric cardiomyopathy is a rare but severe disease with high morbidity and mortality. In children, cardiomyopathy is poorly understood and only in one third of pediatric cases a cause can be established. Recent developments in sequencing technology, specifically next-generation sequencing (NGS), now make it possible to screen large proportions of the human genome and are a valuable tool for the detection of genetic causes of cardiomyopathy. This is particularly important given the large clinical variability and the large number of genes (>100) in which mutations can occur that cause pediatric cardiomyopathy. We here present a consanguineous family with multiple siblings affected by hypertrophic cardiomyopathy (HCM) and sudden cardiac death in whom we performed whole-exome sequencing. We identified a homozygous stop mutation in the *SLC22A5* gene which is associated with primary carnitine deficiency (PCD). Targeted carnitine tandem mass spectrometry analysis in the patient revealed complete absence of plasma free carnitine and trace levels of total carnitine. L-carnitine supplementation in the sole surviving affected patient resulted in a rapid and dramatic clinical improvement. This case illustrates the use of exome sequencing as an unbiased diagnostic tool in pediatric cases of HCM, providing a starting point for successful treatment of the affected patients and preventing further deterioration and premature death.

P460 : Histoire naturelle de la pycnodysostose : Recommandations à partir de 20 familles françaises et d'une revue de la littérature

Auteurs :

Varoona Bizaoui (1, 2), Caroline Michot (2, 1), Genevève Baujat (2, 1), Cyril Amouroux (3), Yline Capri (4), Martine Cohen-Solal (5), Corinne Collet (6), Anne Dieux (7), David Geneviève (8), Bertrand Isidor (9), Massimiliano Rossi (10), Anya Rothenbuhler (11), Elise Schaefer (12), Valérie Cormier-Daire (2, 1)

1. Filière OSCAR, Institut Imagine, Paris, France
2. Service de Génétique Clinique, Hôpital Necker - Enfants Malades, Paris, France
3. Service d'endocrinologie pédiatrique, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
4. Service de Génétique Clinique, Hôpital Robert Debré, Paris, France
5. Service de Rhumatologie, Hôpital Lariboisière, Paris, France
6. Laboratoire de Biochimie et de Biologie Moléculaire, Hôpital Lariboisière, Paris, France
7. Service de Génétique Clinique, Hôpital Jeanne de Flandre, Lille, France
8. Service de Génétique Clinique, Hôpital Universitaire de Montpellier, Montpellier, France
9. Service de Génétique Clinique, CHU de Nantes, Nantes, France
10. Centre de Référence Anomalies du Développement, Hospices civils de Lyon, Lyon, France
11. Service d'endocrinologie pédiatrique, Hôpital du Kremlin-Bicêtre, Paris, France
12. Laboratoire de Génétique Médicale, Institut de Génétique Médicale d'Alsace, Strasbourg, France

Mots clefs : Pycnodysostose, ostéopétrose, CTSK, cathepsine K, fragilité osseuse

Résumé :

La pycnodysostose est une dysplasie squelettique lysosomale qui se transmet sur le mode autosomique récessif. Elle se caractérise par une ostéosclérose, une petite taille, une acro-ostéolyse, une dysmorphie faciale caractéristique, et une fragilité osseuse avec une augmentation du risque fracturaire. De par la faible prévalence de la maladie et son hétérogénéité clinique, il est encore difficile d'établir un pronostic précis, et de proposer aux patients des soins spécifiques et adaptés.
Nous avons établi un questionnaire que nous avons soumis à tous les médecins du réseau construit autour de la filière OSCAR (Os-Calcium-Cartilage). Une base de données établie à partir de ces résultats collige les données clinico-biologiques de 28 patients atteints de pycnodysostose issus de 20 familles. Une consanguinité a été retrouvée dans 84% des familles. Les radiographies montraient une augmentation de la densité osseuse pour 100% des patients. L'ostéodensitométrie n'était jamais nécessaire à l'établissement du diagnostic. La petite taille était constante (-3.4 DS) et plus sévère chez les femmes ($p = 0.006$). Le taux de fracture moyen était modéré (0.2 par an), avec un total de 4 fractures, entre 11 et 19 ans en moyenne. 75% ont nécessité au moins une prise en charge chirurgicale, avec une moyenne de 2 interventions par patient. 50% ont bénéficié d'une ventilation non-invasive dans l'enfance en réponse à un syndrome d'apnées du sommeil (67%). 29% présentaient des difficultés psychomotrices et 33% ont nécessité une scolarisation adaptée ou accompagnée. La prescription d'hormone de croissance améliorait la croissance staturale dans 40% des cas.
Dans le cadre de cette étude, nous avons créé une importante base de données de patients français atteints de pycnodysostose, qui nous donne d'ores-et-déjà de précieux résultats concernant l'évolution clinique de ces patients, et du suivi dont ils ont besoin.
Nous proposons ici plusieurs pistes d'amélioration de la prise en charge de cette maladie, comme le dépistage systématique des malformations de Chiari par IRM cérébrale, ou encore la mise en place d'un suivi psychologique.

Pycnodysostose-Abstract.pdf

P461 - DPC : ARCHITECTURE GENETIQUE DE L'HYPERTENSION PULMONAIRE REVISITEE PAR LES PANELS NGS

Auteurs :

Mélanie EYRIES (1), Anne LEROY (1), Barbara GIRERD (2), David MONTANI (3), Marilyne LEVY (4), Damien BONNET (4), Florence COULET (1), Anaud BOURDIN (5), Romain TRESORIER (6), Ari CHAOUAT (7), Vincent COTTIN (8), Céline SANFIORENZO (9), Grégoire PREVOT (10), Martine REYNAUD-GAUBERT (11), Claire DROMER (12), Ali HOUEIJEH (13), Karine NGUYEN (14), Marc HUMBERT (3), Florent SOUBRIER (1)

1. Génétique, Hôpital Pitié-Salpétrière, Paris, France
2. , Hôpital de Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France
3. Centre de référence de l'hypertension artérielle sévère, Hôpital de Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France
4. Chirurgie cardiaque, Hôpital Necker, Paris, France
5. Pneumologie et Addictologie, CHU Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
6. Cardiologie et maladies vasculaires, CHU Gabriel Montpied, Clermont-Ferrand, France
7. Pneumologie , CHRU Nancy-Université de Lorraine, Vandoeuvre-les-nancy, France
8. Pneumologie , GH Est-Hôpital louis Pradel, Bron, France
9. Pneumologie , Hôpital Pasteur-CHU Nice, Nice, France
10. Pneumologie , Hôpital Larrey, Toulouse, France
11. Pneumologie , CHU Nord de Marseille, Marseille, France
12. Pneumologie , CHU de Bordeaux Hôpital Haut-lévêque, Bordeaux, France
13. Cardiologie Infantile et Congénitale, CHRU Lille-Hôpital Cardiologique, Lille, France
14. Génétique Médicale, CHU Timone enfants, Marseille, France

Mots clefs : HTAP, MVO, Capture ciblée

Résumé :

Contexte
L'hypertension artérielle pulmonaire (HTAP) est une maladie rare et grave, de transmission autosomique dominante, 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. Depuis la découverte de mutations dans le gène *BMPR2* en 2000, des mutations sur plusieurs autres gènes, liés ou non à la signalisation BMPR2, ont été découvertes faisant de l'HTAP une maladie génétique hétérogène. La maladie veino-occlusive pulmonaire (MVO) est une forme rare d'hypertension pulmonaire cliniquement proche de l'HTAP, de transmission autosomique récessive, pour laquelle EIF2AK4 a été identifié comme gène causal principal.
Objectifs
Etudier la prévalence des mutations des gènes impliqués dans l'HTAP et la MVO grâce à une approche de NGS ciblé.
Méthodes
Analyse de 176 cas index : 117 HTAP idiopathiques (HTAPi), 8 HTAP familiales (HTAPf), 8 HTAP induites par médicament ou toxine et 43 MVO. Screening moléculaire par un panel de capture ciblé comprenant les gènes ACVRL1, ENG, GDF2, BMPR2, CAV1, KCNK3, EIF2AK4, SMAD9 et TBX4. Tout variant potentiellement pathogène a été vérifié par séquençage Sanger ou analyse MLPA.
Résultats
Une mutation a été identifiée chez 31 des 176 sujets analysés: 22 chez les HTAPi (19% d'HTAPi), 5 chez les HTAPf (62.5% d'HTAPf) et 4 chez les MVO (9.3% des MVO). Aucune mutation n'a été identifiée chez les patients avec HTAP induite par médicament ou toxine.
Nous avons identifié 18 mutations de BMPR2 (13 HTAPi ; 5 HTAPf), 2 de ACVRL1 (2 HTAPi), 5 de TBX4 (4 HTAPi), 1 de GDF2 (1 HTAPi), 1 de SMAD9 (1 HTAPi) et 5 mutations bialléliques de EIF2AK4 (1 HTAPi et 4 MVO). Aucune mutation pathogène n'a été identifiée dans KCNK3 ou CAV1. Cependant, un variant de signification inconnue possiblement pathogène a été identifié dans chacun de ces gènes.
Conclusions
L'approche de NGS ciblé est un outil efficace pour améliorer la connaissance de l'architecture génétique de l'HTAP. Dans notre cohorte, le gène majeur reste BMPR2, suivi de TBX4, et les mutations de plusieurs autres gènes impliqués dans l'HTAP ont été détectées dans un petit nombre de cas. L'identification de ces mutations permet de confirmer l'implication de ces gènes dans l'HTAP, car seuls quelques rares cas ont été rapportés dans la littérature. Cela permet également de proposer un conseil génétique à ces patients et à leur famille. En outre, l'identification de mutations bialléliques du gène EIF2AK4 peut confirmer un diagnostic de MVO initialement suspecté ou non.

Assises2018_PAH NGS.docx

P462 : La digital droplet PCR : un outil moléculaire ultrasensible pour le diagnostic précoce du syndrome de McCune Albright

Auteurs :

Pauline ROMANET (1, 2), pascal PHILIBERT (3), Frédéric FINA (4), Thomas CUNY (5, 6), L'houcine OUAFIK (7, 8), Alain ENJALBERT (9, 1), Françoise PARIS (10), Rachel REYNAUD (11, 6), Anne BARLIER (1, 2)

1. Laboratoire de biologie moléculaire, APHM, Hôpital la Conception, Marseille, France
2. CNRS CRN2M UMR 7286, Aix Marseille Univ, Marseille, France
3. Département de biologie moléculaire, CHU de Montpellier, montpellier, France
4. Service de Transfert d'Oncologie Biologique, Faculté de Médecine Nord, Assistance Publique Hôpitaux de Marseille, Aix-Marseille Univ, Marseille, France., Marseille, France
5. Département d'endocrinologie, APHM, Hôpital la Conception, Marseille, France
6. CNRS CRN2M UMR 7286, Aix Marseille Univ, marseille, France
7. Service de Transfert d'Oncologie Biologique, Faculté de Médecine Nord, APHM, Hôpital la Conception, Marseille, France
8. , Aix Marseille Univ, marseille, France
9. CNRS CRN2M UMR 7286, Aix Marseille Univ, Marseille, France
10. Département de biologie moléculaire, CHU de Montpellier, Montpellier, France
11. Département d'endocrinologie pédiatrique, APHM, Marseille, France

Mots clefs : digital droplet PCR, ADN circulant, Syndrome de McCune Albright, dysplasie fibreuse osseuse, tâches cutanées café-au-lait, rté précoce périphérique, GNAS

Résumé :

Contexte : Le syndrome de McCune Albright (SMA) est une maladie génétique non héréditaire de révélation généralement pédiatrique caractérisée par une triade clique associant une dysplasie fibreuse des os (DFO), des tâches cutanées café-au-lait (TCC) et une puberté précoce périphérique (PPP) pouvant être associée à des atteintes système endocrine comme une hyperthyroïdie ou un adénome hypophysaire. Le SMA est du à des mutations activatrices récurrentes du gène *GNAS*. La survenue post-zygotique de ces mutations est responsable d'une distribution en mosaïque, les rendant généralement indétectables dans le sang périphérique. En conséquence, en l'absence de prélèvement invasif, le diagnostic est souvent tardif, basé sur l'apparition d'au moins 2 des 3 signes cliniques de la triade.
Objectif : Le développement d'un test sensible et non invasif est un enjeu majeur pour l'amélioration de la précocité du diagnostic et de la prise en charge des patients.
Méthodologie : Nous avons développé la recherche des mutations R201C et R201H du gène *GNAS* par digital droplet PCR (ddPCR). Après une phase de validation technique et de comparaison de méthode sur 37 échantillons variés d'ADN de 18 patients précédemment analysés par Nested-PCR par l'équipe du laboratoire d'hormonologie du CHRU de Montpellier, nous avons analysé l'ADN extrait à partir du sang total de patients présentant 1 à 3 signes du SMA, et également des échantillons d'ADN somatique ou d'ADN circulant plasmatique chez les mêmes patients.
Résultats : 16 patients, âgés de 1 à 71 ans, ont été inclus. Une mutation de *GNAS* a été détecté chez 50% dans l'ADN extrait du sang total quelque soit le nombre de signes cliniques. Ce taux de détection de mutation a été augmenté jusqu'à 62% (10/16) des patients en combinant l'analyse sur sang total avec une analyse de l'ADN circulant plasmatique.
Conclusion/discussion : Nous démontrons ici l'intérêt de la technique de ddPCR pour le dépistage ciblé des mutations de *GNAS* chez les patients dés l'apparition d'une lésion typique du SMA, avec un bénéfice considérable en terme de sensibilité, d'acceptabilité et de coût. La combinaison de cette technologie innovante avec une analyse sur ADN circulant augmente drastiquement le taux de détection de mutation (62%) au delà des taux retrouvés pour un prélèvement non invasif analysé par des techniques de PCR avec enrichissement : Nested-PCR, MEMO-PCR ou PNA clamping dans la littérature (respectivement 37%, 29% et 35%).

abstracts assises 2018 romanetpauline.doc

P463 - DPC : Une mutation du gene RRAD conduit à l'apparition de perturbations électriques et structurales cellulaires cardiaques dans une famille atteinte du syndrome de Brugada

Auteurs :

Nadjet Belbachir (1), Vincent Portero (2), Jean-Baptiste Gourraud (3), Laurence Jesel (4), Nathalie Gaborit (5), Christophe Guilluy (6), Aurore Girardeau (5), Stéphanie Bonnaud (5), Floriane Simonet (5), Matilde Karakachoff (5), Sabine Pattier (7), Carol Scott (8), sophie Burel (5), Celine Marionneau (5), Caroline Charriau (9), Anne Gaignerie (5), Emmanuelle Genin (10), Jean-François Deleuze (11), Christian Dina (5), Jean-jacques Schott (5), Vincent Probst (12), Richard Redon (5), Flavien Charpentier (5), Solena Le Scouarnec (5)

1. , l'institut du thorax, INSERM, CNRS, UNIV Nantes, Nantes, France
2. , l'institut du thorax, INSERM, CNRS, UNIV Nantes, Amsterdam, Pays-Bas
3. , l'institut du thorax, INSERM, CNRS, CHU Nantes, Nantes, France
4. Cardiologie, CHU Strasbourg, Strasbourg, France
5. , l'institut du thorax, INSERM, CNRS, UNIV Nantes, nantes, France
6. , Institute for Advanced Biosciences, INSERM, CNRS, Grenoble, France
7. , l'institut du thorax, INSERM, CNRS, CHU Nantes, nantes, France
8. , The Wellcome Trust Sanger Institute, Cambridge, Royaume Uni
9. , l'institut du thorax, INSERM, CNRS, UNIV Nantes, nantes, Finlande
10. Cardiologie, CHU Brest, france, Brest, France
11. , Centre National de Recherche en Génomique Humaine, Institut de Génomique, CEA, Evry, France
12. Cardiologie, l'institut du thorax, INSERM, CNRS, CHU Nantes, nantes, France

Mots clefs : Syndrome de Brugada, Rad GTPase, INa, ICaL, EAD, Cytosquelette

Résumé :

Le syndrome de Brugada (BrS) est une maladie rare associée à un risque élevé de tachycardies ventriculaires pouvant mener à la mort subite cardiaque chez les patients atteints. A ce jour, seulement 30% des cas de BrS ont été liés à des causes génétiques connues et sont généralement associées à des mutations du gène SCN5A codant pour le canal sodique cardiaque Nav1.5. Par une approche basée sur le séquençage d'exomes complets, nous avons identifié un variant rare non synonyme (p.R211H) sur le gène *RRAD* partagé par les cinq membres atteints au sein d'une grande famille avec histoire de BrS.
RRAD code pour la protéine G monomérique Rad, précédemment impliquée dans des modèles expérimentaux de pathologies cardiaques, telles que l'hypertrophie. [RR1] Afin de déterminer l'implication du variant p.R211H dans cette forme familiale de BrS, nous avons réalisé une étude fonctionnelle combinant trois modèles expérimentaux : (1) des cardiomyocytes dérivés des cellules souches pluripotentes induites (CM-iPSC) reprogrammées à partir des membres de la famille ; (2) des cardiomyocytes isolés de souris nouveau-nées (CNN) dans lesquels Rad-WT et Rad-p.R211H ont été surexprimé ; (3) un modèle knock-in de souris portant le variant Rad R210H.
Les CM-iPSC issus du patient BrS présentent une diminution de la dV/dTmax du potentiel d'action (PA) liée à une diminution des courants dépolarisants I_{Na} et I_{CaL}, une augmentation de la durée du PA associée à une augmentation du courant sodique persistant I_{NaP} et une incidence élevée de post-dépolarisation précoces (EAD). Ce phénotype électrique s'associe à une désorganisation du cytosquelette d'actine engendrant une perturbation de l'organisation sarcomérique au sein de ces cardiomyocytes ainsi qu'une réduction des points focaux d'adhésion (FAd). Des résultats similaires ont été obtenus sur les CNN surexprimants Rad-WT et Rad-p.R211H qui montrent une diminution des courant I_{Na} et I_{CaL} ainsi qu'une corticalisation du cytosquelette d'actine et une diminution du nombre de FAd. Les résultats préliminaires obtenus sur la souris KI Rad R210H, montrent une perturbation de l'ECG enregistrés sous Ajmaline à l'âge de 15 semaines ainsi qu'une augmentation de la fibrose interstitielle dans le ventricule droit. La protéine Rad a été retrouvée 4 fois plus exprimée au sein de la chambre de chasse du ventricule droit que dans les autres compartiments cardiaques des souris KI et WT.
Notre étude démontre l'implication de Rad dans le syndrome de Brugada, le phénotype observé en présence du variant p.R211H associant les perturbations électriques classiquement liées à la pathologie à des troubles du cytosquelette.

P464 : Analyse génétique en WHOLE EXOME SEQUENCING de 6 familles prédisposées à la sarcoïdose : une grande hétérogénéité génétique mais une focalisation fonctionnelle autour des voies de signalisation de l'autophagie

Auteurs :

Alain CALENDER (1), Pierre ROLLAT FARNIER (2), Anne BLANGY (3), Adrien BUISSON (1), Abderazzaq BENTAHER (4), Gilles DEVOUASSOUX (5), Vincent COTTIN (5), Valérie BESNARD (6), Carole PLANES (6), Dominique ISRAEL BIET (7), Claire BARDEL (8), Pascal ROY (8), Dominique VALEYRE (9), Yves PACHECO (5), GSF Groupe Sarcoïdose France (10)

1. Génétique Moléculaire et Médicale, Hospices Civils de LYON, LYON, France
2. Service de Bio Informatique et Bio Statistiques, Hospices Civils de LYON, LYON, France
3. CNRS-UMR 5237 - Centre de Recherche en Biologie cellulaire , Université de Montpellier, MONTPELLIER, France
4. Inflammation & Immunity of the Respiratory Epithelium - EA7426 (PI3) , Université Claude Bernard LYON 1, LYON, France
5. Service de pneumologie, Hospices Civils de LYON, LYON, France
6. EA 2363 - Equipe Hypoxie et Poumon, Université Paris XIII, PARIS, France
7. Service de Pneumologie, Hôpital Européen Georges Pompidou, PARIS, France
8. Service de biostatistiques, Hospices Civils de LYON, LYON, France
9. Service de pneumologie, Hôpital Avicenne, PARIS, France
10. Service de Pneumologie, Hôpital Avicenne, PARIS, France

Mots clefs : Sarcoïdose, prédisposition, granulome, autophagie, fibrose

Résumé :

La sarcoïdose reste une maladie d'étiologie méconnue. Les approches explicatives sont actuellement environnementales et/ou génétiques. Les hypothèses fonctionnelles et biochimiques ont abordé les voies de signalisation suivantes: NFkB, STAT1, Galphai, RIP2, IRAK et plus récemment mTOR. L'étude nationale SARCFAM (*Familial vs. sporadic sarcoidosis: BTNL2 polymorphisms, clinical presentations, and outcome in a French cohort (GSF). Orphanet J. Rare Dis. 2016; 11: 165-73)* a permis de collecter plus de 150 familles présentant une prédisposition à la maladie. Au sein de cette cohorte, six familles réunissant au moins deux ou trois sujets malades et un ou deux témoins sains ont pu bénéficier d'une étude en Whole Exome Sequencing (WES). Le séquençage a été réalisé sur Illumina HiSEQ 2500 en coopération avec INTEGRAGEN (C) et les données sources ont été analysées par un pipeline informatique développé au sein de l'équipe suivant les recommandations du Broad Institute :(https://www.broadinstitute.org/gatk/guide/best-practices).
Tous les cas et témoins ont été séquencés deux fois dans des protocoles indépendants et seuls les résultats reproductibles ont été retenus. Une sélection de variants géniques ont été confirmés par séquençage SANGER.
Les résultats montrent :
1) que cette maladie présente une très forte hétérogénéité génétique,
2) que des variations génotypiques entre patients d'une même famille sont susceptibles d'expliquer une expressivité variable de la maladie,
3) qu'il existe une forte concentration de mutations dans la sphère immunologique,
4) que ces mutations intéressent les voies de signalisation et de régulation de l'autophagie autour des hubs fonctionnels Rac1 et de la voie mTor,
5) qu'il existe une concentration par famille de variants pathogènes in silico dans ces voies fonctionnelles , 3 à 8 pour Rac1, 2 à 6 pour mTOR et l'autophagie, suggérant une complémentation des effets pathogènes à l'origine de la prédisposition.
Ces observations s'inscrivent dans le cadre des progrès récents sur le rôle d'une dérégulation de la voie mTOR dans la genèse du granulome, en particulier dans le contexte de la sarcoïdose. Elles conduisent à des hypothèses séduisantes sur un dysfonctionnement du processus d'autophagie rendant les malades plus vulnérables à divers facteurs pathogènes de l'environnement . Il s'agit de la première étude à l'échelon mondial sur les formes familiales de sarcoïdose. Les résultats préliminaires de tests fonctionnels sur un des gènes codant un régulateur de Rac1 seront présentés. Les données génotypiques obtenues, étendues à l'ensemble de la cohorte nationale SARCFAM et à des formes pédiatriques (1), seront utiles pour la définition des groupes phénotypiques de la maladie, des formes bénignes aux évolutions les plus sévères avec fibrose, et à terme envisager une meilleure adaptation thérapeutique.
(1) CALENDER A. et coll., soumis le 7.09.2017, BMC Medical Genomics

P465 : Amplification de TP53 dans un cas de LAM.

Auteurs :

Olivier Theisen (1), Eric Dresco (2), Marion Eveillard (1), Marie-christine Bene (1), Catherine Godon (1), Yannick Le Bris (1)

1. Laboratoire d'hématologie, CHU Nantes, Nantes, France
2. Médecine Interne, CH-Côte de Lumière, Olonne Sur mer, France

Mots clefs : amplification gènique-TP53-leucémie aigue myéloïde

Résumé :

La recherche d'anomalies de *TP53* n'est pas une démarche classique dans le contexte des leucémies aiguës myéloblastiques (LAM). Nous rapportons le cas d'un patient, actuellement traité depuis 3 mois par azacytidine, chez qui des anomalies inhabituelles de ce gène ont été observées.
Il s'agit d'un patient de 81 ans sans antécédent particulier, chez qui est découverte, au cours d'un bilan systématique, une anémie à 7,1g/dL bien tolérée. L'examen clinique ne présente pas de particularité. Le bilan biologique retrouve à l'hémogramme une anémie macrocytaire à 6,9 g/dL associée à une thrombopénie à 106 G/L. Un myélogramme est réalisé, qui met en évidence des signes de dysplasie sur les 3 lignées, mais surtout 32% de blastes à chromatine fine, la présence de rares corps d'Auer et une expression de la myeloperoxydase aboutissant au diagnostic de LAM2. La cytométrie en flux retrouve sur un prélèvement sanguin 6% de blastes myéloïdes CD34+, CD13+, CD33+, CD117+. Le caryotype médullaire met en évidence 2 clones complexes indiquant un pronostic cytogénétique défavorable. Il existe notamment sur ces deux clones du matériel chromosomique additionnel sur le bras court d'un chromosome 17 en 17p13, faisant suspecter une délétion de *TP53*. Il existe par ailleurs plusieurs marqueurs chromosomiques (deux dans un clone, trois dans le second).
Une analyse FISH est réalisée à la recherche d'une délétion *TP53* avec la sonde TP53 et la sonde centromérique témoin D17Z1 (Cytocell-LPH 017) qui met en évidence, non pas une délétion, mais une amplification avec présence de 6 à plus de 10 signaux 17p13-*TP53* pour effectivement seulement 2 signaux témoins D17Z1 dans 90% des noyaux observés. Les métaphases présentes sur l'échantillon examiné en FISH permettent de retrouver des signaux *TP53* avec une intensité augmentée sur le matériel chromosomique additionnel en 17p13. Ces signaux augmentés sont également présents sur les marqueurs chromosomiques.
Le gène *TP53* étant un gène suppresseur de tumeur, il est surprenant de le retrouver amplifié dans une LAM ce qui laisse supposer une mutation rendant la protéine non fonctionnelle. L'analyse en biologie moléculaire par séquençage direct (technique Sanger) sur un prélèvement sanguin retrouve effectivement une mutation de *TP53* de type p.V143M. Si les délétions et les mutations de *TP53* sont très largement décrites, aucun cas d'amplification de *TP53* n'est rapporté à notre connaissance dans les LAM. Cette amplification d'un gène muté, probablement non fonctionnel, peut se rapprocher des hyperexpressions détectées en immunohistochimie de la protéine P53, décrites dans de nombreuses pathologies tumorales.

Amplification de TP53 dans un cas de LAM-1.docx

P466 : Amplification inhabituelle d'EVI1 dans une leucémie aiguë myéloblastique

Auteurs :

Olivier Theisen (1), Pascal Godmer (2), Catherine Godon (1), Marie-christine Bene (1), Marion Eveillard (1)

1. Laboratoire d'hématologie, CHU Nantes, Nantes, France
2. Hématologie, CH Bretagne Atlantique, Vannes, France

Mots clefs : Amplification gènique-EVI1- leucémie aiguë myéloblastique

Résumé :

Le gène *EVI1* code pour un facteur de transcription constitué d'une protéine en doigt de zinc qui joue un rôle dans le développement et l'oncogénèse. Une expression inappropriée d'EVI1 est rapportée dans 1 à 3% des leucémies aiguës myéloblastiques, associée à un pronostic péjoratif. Ceci résulte le plus souvent d'une activation constitutive du gène, par inv(3)(q21q26) ou t(3;3)(q21;q26) impliquant le gène *RPN1* en 3q21, mais il existe de nombreux autres gènes partenaires. Par contre, l'association d'une leucémie aiguë myéloblastique et d'une amplification d'*EVI1* n'a été que très rarement décrite.
Le patient concerné était un homme âgé de 69 ans au moment de l'observation rapportée. Il présentait des antécédents de cancer de la prostate, 11 ans auparavant, et un diagnostic de myélome multiple IgG-lambda avait été porté un an plus tôt, traité de façon efficace par melphalan, prednisone et bortezomib. Il est hospitalisé fin 2012 dans un contexte de thrombose du membre inférieur et l'hémogramme met en évidence une pancytopénie et la présence de blastes circulants. Un myélogramme retrouve 40% de blastes majoritairement non différenciés, 10% de plasmocytes et des signes de dysplasie multilignée. Un diagnostic de LAM secondaire à la chimiothérapie est posé. Le caryotype, complexe, est caractérisé par une délétion du bras long du chromosome 7, la perte d'un chromosome 3 et la présence de matériel additionnel sur le chromosome 14, associées à la présence d'un anneau chromosomique. La FISH confirme la del(7q) dans 50% des noyaux. Le matériel chromosomique additionnel situé en 14 p est un segment chromosomique du chromosome 3 et l'anneau chromosomique n'est constitué que de chromosome 3. Ces anomalies suggèrent l'implication du gène *EVI1* et l'utilisation d'une sonde triple couleur montre une amplification majeure d'*EVI1* dans la moitié des cellules également.
Les anomalies du chromosome 3 sont de très mauvais pronostic dans les LAM. Ces dernières sont le plus souvent des LAM secondaires, associées à un caryotype complexe comprenant une monosomie 7 et une dysplasie multilignée comme chez ce patient. On y observe également des micromégacaryocytes en cluster . Dans ce cas très particulier de LAM secondaire, la perte d'un chromosome 3 et la présence d'un chromosome en anneau ne préjugeaient pas de la présence d'une anomalie de ce gène. L'identification en FISH a permis de constater que l'anneau chromosomique était entièrement constitué de matériel génomique du chromosome 3, ce qui a permis de guider l'identification de cette amplification majeure d'*EVI*1 représentant la quasi-totalité de l'anneau chromosomique. Les chromosomes en anneau, qui résultent de la circularisation d'un chromosome suite à des délétions sur les deux bras, sont des formes instables qui peuvent subir au cours des divisions cellulaires des duplications successives. C'est ce qui s'est passé au niveau du locus d'*EVI1* chez ce patient.

Amplification inhabituelle dEVI1.docx

P467 : UMD-SLC40A1 : une base de données dédiée à l'étude et à l'interprétation clinique des variants rares du gène associé à l'hémochromatose de type 4, ou maladie de la ferroportine.

Auteurs :

Kévin Uguen (1, 2), Julie Guellec (1), Chandran Ka (1, 2), Isabelle Gourlaouen (3, 2), David Salgado (4), Christophe Beroud (4, 5), Claude Ferec (2, 1), Gérald Le Gac (2, 1)

1. Inserm UMR 1078, Université Bretagne Loire – Université de Bretagne Occidentale, Brest, France
2. Laboratoire de Génétique Moléculaire et Histocompatibilité, CHRU de Brest, Brest, France
3. Etablissement Français du Sang, Etablissement Français du Sang, Brest, France
4. INSERM, GMGF, Aix Marseille University, Marseille, France
5. Laboratoire de Génétique Moléculaire, APHM, Hôpital TIMONE Enfants, Marseille, France

Mots clefs : base de données moléculaires et cliniques, hémochromatose, ferroportine, variants rares, hyperferritinémies secondaires

Résumé :

Introduction : L'hémochromatose (HC) de type 4 est une maladie innée du métabolisme du fer, de transmission autosomique dominante et quasi-exclusivement associée à des mutations faux-sens du gène *SLC40A1*. Ce gène code un transporteur de fer intracellulaire unique chez les mammifères : la ferroportine 1. Sur le plan clinique, on distingue les mutations gain-de-fonction, entraînant une surcharge en fer systémique progressive comparable à celle observée dans l'HC liée au gène *HFE* (HC de type 4B), des mutations perte-de-fonction, occasionnant une surcharge en fer macrophagique marquée par une hyperferritinémie contrastant avec un coefficient de saturation de la transferrine normal ou légèrement augmenté (HC de type 4A). Cette seconde entité clinique qui prédomine dans la littérature est souvent appelée « maladie de la ferroportine ». Après la description de « familles historiques », on assiste aujourd'hui à la publication d'un nombre grandissant de variants très rares, voire privés, dont l'association avec une forme primitive de surcharge en fer est discutable. Le problème est d'autant plus important que le diagnostic d'HC de type 4 est souvent proposé sur des bases biologiques et que de nombreuses phénocopies existent.
Méthodes : Une analyse bibliographique exhaustive a permis de recenser 54 variants du gène *SLC40A1* décrits chez 289 patients dont 53 familles. Les données moléculaires, biologiques, histologiques, cliniques et thérapeutiques disponibles pour chaque patient ont été renseignées dans une base de type UMD (« Universal Mutation Database »). Chaque variant a ensuite été classé selon les recommandations de l'« American College of Medical Genetics and Genomics » et à l'aide de l'outil InterVar. L'interprétation fonctionnelle des variants s'est basée sur les résultats de tests fonctionnels *in vitro* (1,2), complétés par des prédictions *in silico*.
Résultats : Les 54 variants ont été classés en 5 catégories : pathogéniques (n=16), probablement pathogéniques (n=22), probablement bénins (n=5), bénins (n=3), et de signification inconnue (n=8). Sur les 38 variants associés à l'HC de type 4, 20 ont été associés à une perte de fonction et 15 à un gain de fonction. L'analyse des données biologiques et cliniques a permis de mettre en évidence une nette disparité entre les variants pathogéniques et les variants bénins ou probablement bénins. Ces derniers sont associés à des valeurs de ferritine sérique plus modérées, susceptibles d'être expliquées par des causes secondaires (syndrome métabolique, alcool).
Conclusion : Notre base de données, inédite, permet d'apprécier le spectre mutationnel du gène *SLC40A1* en faisant converger un ensemble d'informations indispensables à l'interprétation clinique de variants rares. Au delà de son intérêt pour le diagnostic et le conseil génétique, elle permet d'améliorer les connaissances sur l'HC de type 4 qui reste probablement sous-diagnostiquée.
1. Le Gac *et al, Hum. Mut.,* 2013.
2. Callebaut *el al*, *Hum. Mol. Genet,* 2014.

AGHM2018_UMD.docx

P468 : Mutations post-zygotiques de BRAF dans des formes de phacomatose pigmentokératosique et de syringocystadénome papillifère congénital syndromique avec atteinte vasculaire : extension du spectre de BRAF dans les RASopathies en mosaïque

Auteurs :

Paul Kuentz (1, 2), Virginie Carmignac (2), Athur Sorlin (3, 2), Jeanne Amiel (4), Olivia Boccara (5), Sylvie Fraitag (6), Annabel Maruani (7), Martin Chevarin (2), Thibaud Jouan (2), Judith St-Onge (8, 2), Yannis Duffourd (2), Christophe Philippe (8, 2), Christel Thauvin-Robinet (3, 2), Laurence Faivre (3, 2), Jean-Baptiste Rivière (8, 2), Pierre Vabres (9, 2)

1. Génétique Biologique Histologie, PCBio, Centre Hospitalier Universitaire de Besançon, Besançon, France
2. UMR-Inserm 1231 GAD, Génétique des Anomalies du développement, Université de Bourgogne Franche-Comté, Dijon, France
3. Centre de Génétique et Centre de référence « Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs », Hôpital d'Enfants, Centre Hospitalier Universitaire de Dijon, Dijon, France
4. Laboratoire de Génétique moléculaire, APHP, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
5. Service de Dermatologie, APHP, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
6. Service d'Anatomie et de Cytologie Pathologiques, APHP, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
7. Service de Dermatologie, Centre Hospitalier Universitaire de Tours, Tours, France
8. Laboratoire de Génétique chromosomique et moléculaire, Plateau Technique de Biologie, Centre Hospitalier Universitaire de Dijon, Dijon, France
9. Service de Dermatologie, Centre Hospitalier Universitaire de Dijon, Dijon, France

Mots clefs : RASopathies en mosaïque, phacomatose pigmentokératosique, syringocystadénome papillifère, lésions cutanées pigmentaires et vasculaires, BRAF, post-zygotique

Résumé :

La phacomatose pigmentokératosique (PPK) est définie par l'association, chez un même patient, d'un naevus épidermique et d'un naevus spilus. Le syringocystadénome papillifère (SCAP) est une lésion cutanée bénigne et sporadique qui suit fréquemment les lignes de Blashko. Des mutations des gènes *HRAS* et *BRAF* ont été identifiées dans ces deux affections. Nous rapportons deux patientes avec des présentations cliniques associées à des mutations postzygotiques de *BRAF*, identifiées par séquençage de nouvelle génération dans l'ADN d'une biopsie cutanée prélevée en zone atteinte : (1) le deuxième cas de PPK associé à la variation p.(Gly596Arg) encore non rapportée ; (2) le troisième cas de SCAP congénital causé par la variation p.(Val600Glu), mais avec une présentation non linéaire et associée à des anomalies vasculaires et oculaires. Des mutations germinales activatrices de *BRAF* sont identifiées dans les RASopathies germinales, notamment le syndrome cardiofaciocutané (CFC), mais aussi les syndromes de Noonan et LEOPARD. Dans ces affections peuvent être présentes des lésions cutanées pigmentaires telles que lentigines et tâches café-au-lait. Ainsi, il existe un chevauchement entre la PPK et les RASopathies germinales secondaires à une mutation de *BRAF*. L'identification d'une mutation germinale p.(Gly596Val) au niveau du même codon 596 dans un syndrome CFC est un argument supplémentaire de ce chevauchement à la fois clinique et génétique. Notre cas de SCAP congénital syndromique est tout à fait comparable à un autre cas récemment rapporté, bien que notre patiente présente un anévrysme de la terminaison de la carotide droite à la place d'un astrocytome anaplasique. Des variations post-zygotiques de *BRAF* ont été identifiées dans des granulomes pyogéniques, qui sont des lésions cutanées vasculaires bénignes apparaissant soit de manière sporadique, soit sur des angiomes préexistants. Nos résultats confortent l'hypothèse d'un rôle des mutations de *BRAF* dans la survenue de lésions vasculaires bénignes, non restreintes à la classique mutation p.(Val600Glu). L'identification de variations post-zygotiques de *BRAF* dans des présentations de PPK et de SCAP congénital syndromique confirme l'association récente de mutations de ce gène dans ces RASopathies en mosaïque.

abstract assises BRAF.docx

P469 : Caractérisation d'une cohorte de patients avec neuropathie optique héréditaire

Auteurs :

marie-aude robert de rancher (1), anne-sophie lebre (2), virginie grybek (2), dominique gaillard (2)

1. genetique reims, hopital maison blanche , paris, France
2. genetique reims, hopital maison blanche , reims, France

Mots clefs : Atrophie Optique, NOHL, ADN mitochondrial, OPA1, NGS

Résumé :

Introduction. Les neuropathies optiques génétiques sont caractérisées par un dysfonctionnement mitochondrial secondaire à différentes mutations impliquant le génome mitochondrial ou nucléaire. Le diagnostic étiologique de ces neuropathies optiques héréditaires reste parfois difficile. L'objectif de ce travail est la recherche de corrélations génotype-phénotype dans les neuropathies optiques isolées, la neuropathie optique de Leber (NOHL) et l'atrophie optique dominante (AOD).
Patients et méthodes. Les patients avec neuropathie optique à caractère héréditaire suivis et prélevés au CHU de Reims entre 1997 et 2017 ont été inclus dans notre étude. Ils ont bénéficié d'une étude exhaustive par NGS de l'ADN mitochondrial ainsi que des gènes nucléaires *OPA1, OPA3, AFG3L2, MFN2* et *SPG7.* Cette étude rétrospective a permis l'inclusion de 30 cas-index atteints d'une neuropathie optique à caractère héréditaire. Ces patients ont tous bénéficié d'une consultation de génétique au CHU de Reims. Les dossiers médicaux ont été étudiés afin de relever les données démographiques, cliniques, biologiques, ainsi que les résultats des examens complémentaires.
Résultats. Un diagnostic de certitude a été posé chez 40% (12/30) des patients. 5 patients (16,7%) présentaient une mutation de l'ADN mitochondrial (patients NOHL), 6 patients (20%) portaient une mutation du gène *OPA1,* et un patient portait une mutation du gène *MFN2.* La baisse d'acuité visuelle est significativement plus sévère chez les patients NOHL que chez les patients *OPA1.* Aucune différence significative n'a été mise en évidence entre les deux groupes en ce qui concerne l'épaisseur de la couche des fibres nerveuses rétiniennes (RNFL). L'étude des facteurs de risque, toxiques et carentiels, a permis d'identifier un facteur de risque, toxique et/ou carentiel chez 50% des patients LHON ; et une carence en vitamine B3 et en carnitine chez les patients NOHL et *OPA1.*
Discussion et perspectives. A ce jour, les thérapeutiques proposées dans les neuropathies optiques génétiques ont une efficacité controversée. Néanmoins, différents facteurs de risque de toxicité mitochondriale ont été identifiés pouvant favoriser le déclanchement de la neuropathie optique, et plus particulièrement chez les patients NOHL. L'obtention d'un diagnostic de certitude, la recherche systématique de facteurs de risques, l'enquête familiale, le conseil génétique et la prise en charge hygiéno-diététique adaptée du cas- index et des apparentés porteurs asymptomatiques sont indispensables. La rédaction d'un protocole national de diagnostic et de soins serait utile afin d'harmoniser les pratiques.

P470 - DPC : Cardiomyopathies pédiatriques : Spectre moléculaire et relations génotype-phénotype

Auteurs :

Flavie ADER (1), DIALA KRHAICHE (2), Caroline ROORYCK-THAMBO (3), Alice KUSTER (4), YANN TROADEC (5), Caroline RAMBAUD (6), Nadir BENDRIK (7), Céline BORDET (8), Damien BONNET (2), Philippe CHARRON (9), 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
2. Service de cardiopédiatrie, Hôpital Universitaire Necker Enfants Malades, PARIS, France
3. Service de Génétique Clinique, CHU BORDEAUX, BORDEAUX, France
4. Service de Génétique Clinique, CHU NANTES, NANTES, France
5. Service de Génétique Clinique, CHU CAEN, CAEN, France
6. Institut médico-légal, Hôpital Raymond Poincaré, GARCHES, France
7. Service de cardiopédiatrie, CHU NANTES, NANTES, France
8. Service de Génétique Clinique, CHU Pitié Salpétrières- Charlesfoix, PARIS, France
9. AP-HP, Service de Génétique, , Hôpital Ambroise Paré, Boulogne-Billancourt, PARIS, France

Mots clefs : Génétique moléculaire, cardiomyopathie, pédiatrie

Résumé :

Introduction : Les cardiomyopathies (CM) sont des maladies du muscle cardiaque d'origine génétique dans 50-60% des cas et de transmission souvent autosomique dominante. La prévalence varie de 1/500 à 1/5000 pour les entités les plus fréquentes, et le diagnostic est généralement posé chez l'adulte jeune. Les formes pédiatriques dont l'origine reste mal connue, à l'exception des phénotypes syndromiques, métaboliques ou infectieux, semblent présenter une évolution d'emblée sévère. L'objectif du travail est de déterminer les causes génétiques de cardiomyopathies pédiatriques dans une cohorte de 57 enfants.

Matériel et méthodes : Cinquante-sept enfants âgés de moins de 15 ans et présentant une cardiomyopathie ont été analysés par séquençage haut débit sur un panel à façon de 52 gènes connus dans les CM et incluant quelques formes syndromiques tels que les syndromes de Barth, Pompe, Danon …
Résultats : Cette cohorte de 57 patients contient 26 filles et 31 garçons. Le rendement mutationnel global est de 61%. L'analyse par groupe phénotypique montre que dans le groupe des CM hypertrophiques (24 patients), l'âge moyen du diagnostic est de 7 ± 5 ans et le taux de mutations de 54% (13/24) incluant 3 enfants porteurs de 2 variants pathogènes (23%). Dans le groupe des CM dilatées (20 patients), l'âge moyen du diagnostic est de 4 ± 3.5 ans, le taux de mutations est de 70% (14/20) incluant 5 patients porteurs de 2 variants pathogènes (35%). Dans le groupe des autres CM (13 patients), l'âge moyen du diagnostic est de 3 ± 3.5 ans et le taux de mutations de 62% (8/13) dont 5 patients porteurs de 2 variants pathogènes.Parmi les 13 enfants présentant un génotype complexe, 9/13 sont porteurs de mutations dans deux gènes différents.
Les patients avec une cardiopathie dilatée, ou autre CM ont un âge de début significativement inférieur (p=0,02) par rapport à ceux qui ont une CMH.
Le spectre des gènes et des mutations en cause retrouve 21 gènes mutés dont une majorité de gènes sarcomériques (13).
En conclusion, l'analyse d'une cohorte pédiatrique par panel de gènes a permis d'identifier des causes moléculaires aux CM pédiatriques chez 61 % des patients. Les gènes du sarcomère sont prédominants et de façon intéressante, la plupart des mutations identifiées le sont pour la première fois dans notre expérience. Les patients avec CMH ont un âge de début plus tardif que les autres.
Les gènes identifiés et le taux similaire d'identification de mutation permettent de soutenir l'hypothèse d'une origine génétique commune entre les CM de l'adulte et celles de l'enfant. La sévérité du phénotype pourrait s'expliquer par un taux plus élevé de patients porteurs de deux mutations et par la nature des variants identifiés. L'identification de l'origine génétique des CM pédiatriques rend possible la proposition d'une analyse moléculaire dans les familles. Ces résultats permettent de proposer un meilleur conseil génétique aux familles notamment dans le cadre du diagnostic prénatal.

P471 - DPC : Syndrome de Calcifications Artérielles Généralisées Infantiles : à propos de 2 cas.

Auteurs :

Clémence JACQUIN (1), Virginie Grybek (1), Anais Grangier (2), Fabien Guimiot (3, 4), Michèle Jasmin (5), Sophie Martin (6), Laurence Perrin (7), Marie-Hélène Saint-Frison (3), Emilie Landais (1), Christelle Mangeonjean (1), Anne Sophie Lebre (1, 8)

1. Service de Génétique, CHU Reims, Hôpital Maison Blanche, REIMS, France
2. Service de Génétique, CHU Limoges, Hôpital de la Mère et l'Enfant, Limoges, France
3. Département de Génétique, UF de Fœtopathologie, Hôpital Robert Debré, Paris, PARIS, France
4. INSERM UMR 1141, F-75019, Université Paris Diderot, Sorbonne Paris Cité, PARIS, France
5. Service de Gynécologie-Obstétrique, CHU Limoges, Limoges, France
6. Foetopathologie, CHU Limoges, Limoges, France
7. Département de génétique, UF de Génétique clinique, Hôpital Robert Debré, Paris, PARIS, France
8. Faculté de Médecine, F-51095, URCA, Université de Reims Champagne Ardenne, REIMS, France

Mots clefs : syndrome GACI, calcifications ectopiques, ENPP1, ABCC6

Résumé :

Introduction : Le syndrome GACI ou Calcifications Artérielles Généralisées Infantiles (ORPHA #51608) est une maladie génétique rare de pronostic sévère et de transmission autosomique récessive. Il se caractérise par la présence de calcifications artérielles disséminées, calcifications extravasculaires et anomalies cutanées et ophtalmologiques similaires à celles observées dans le Pseudo-Xanthome Elastique (PXE). Le syndrome GACI et le PXE se présentent comme étant deux pathologies appartenant à un même spectre clinique lié à des mutations dans les gènes *ENPP1* et *ABCC6*.
Patients : Nous rapportons ici deux cas de fœtus présentant un phénotype GACI avec confirmation moléculaire. Concernant le fœtus 1, un état d'anasarque, un hydramnios et une hyperéchogénicité de l'aorte, des artères pulmonaires et des valves cardiaques ont été mis en évidence lors de l'échographie du second trimestre. Une mort fœtale in utéro a été constatée à 28 SA + 2 jours. L'examen foetopathologique macroscopique a confirmé l'anasarque et la présence d'une cardiomégalie associée à des anomalies valvulaires. Des calcifications vasculaires étendues et disséminées des artères de gros, moyens et petits calibres ont été mises en évidence à l'analyse histologique, tout comme des calcifications périarticulaires et périmusculaires sur les radiographies. Pour le fœtus 2, les anomalies anténatales mises en évidence étaient à type d'hyperéchogénicité des parois artérielles et d'épanchement péricardique. Il est décédé in utéro au terme de 27 SA. L'examen macroscopique, histologique et radiologique a confirmé la présence d'épanchement des séreuses et de calcifications artérielles et abdominales.
Résultats et discussion : L'étude par NGS des gènes *ENPP1* et *ABCC6* a permis d'identifier chez chacun des fœtus deux variants à l'état hétérozygote composite dans les gènes *ENPP1* et *ABCC6,* respectivement. L'implication d'un 3e variant dans le gène *ABCC6* présent chez le fœtus avec mutations *ENPP1* est discutée. Les études moléculaires par panel NGS des deux gènes impliqués dans le GACI ont été mises en place en 2016 au CHU de Reims afin de répondre à un besoin diagnostique à l'échelle nationale. Après étude parentale, ce diagnostic moléculaire permet de proposer un conseil génétique adapté aux familles ainsi qu'un diagnostic prénatal dans le cadre d'une future grossesse.

jacquin_lebre_GACI.docx

P472 : Une implication mitochondriale chez un patient atteint d'ataxie avec déficience en vitamine E

Auteurs :

Marwa Maalej (1), Fatma Kammoun (2), Emna Rebai-Mkaouar (3), Leila Keskes (1), Chanez Triki (2), Faiza FAKHFAKH (3)

1. Laboratoire de génétique moléculaire humaine , Faculté de médecine sfax, SFAX, Tunisie
2. Service de Neuropédiaterie, CHU Hédi Chaker de sfax, SFAX, Tunisie
3. Laboratoire de génétique moléculaire et fonctionnelle , Faculté des sciences de sfax,Tunisie, SFAX, Tunisie

Mots clefs : MT-TG, AVED, TTPA

Résumé :

Introduction : L'ataxie de Friedrich et l'ataxie avec un déficit en vitamine E sont deux maladies neurodégénératives, phénotypiquement très similaires. Les patients présentent généralement une ataxie cérébelleuse progressive avec réflexes tendineux absents, une neuropathie sensorielle profonde, des signes de Babinski et dysarthrie. L'anomalie génique responsable de l'AVED a été localisée en 1993 sur le bras long du chromosome 8 (8Q13.1-q13.3) qui est le gène *TTPA* codant la protéine de transfert de l'Alpha tocophérol. Une anamalie au niveau de gène conduit à un déficit de vitamine E
Patients et méthodes : Nous présentons un patient qui a été d'abord diagnostiqué avec une ataxie de Friedreich. Cependant le dépistage du gène de la Frataxine : candidat de l'ataxie de Friedreich a révélé l'absence d'expansion de GAA dans l'état homozygote ou hétérozygote dans le gène FXN. Ceci nous a incités à mesurer le taux sérique de la vitamine E et ensuite d'étudier le gène *TTPA* ainsi que quelques gènes mitochondriaux au moyen du séquençage automatique
Résultats : D'une part, l'analyse biochimique chez nos patients a montré une diminution de la concentration de vitamine E <1,4 mg / l par rapport à la normale (7-15mg / l) chez le patient. D'autre part, le résultat du séquençage du gène *TTPA* a révélé la présence de la mutation homozygote c.744delA au niveau de l'exon5, qui entraine l'apparition d'un codon stop prématuré à la position 248 (p.E248fx).En outre, l'étude moléculaire de quelques gène mitochondriaux chez ce patient a révélé la présence de la mutation m.10044 A>G à l'état homoplasmique dans gène de l'ARNt Glycine. Cette mutation est impliquée dans des défauts de maturation de l'ARNt.
En conclusion, la présence d'une mutation mitochondriale m.10044A>G pourrait être impliquée dans les dommages des différentes parties du système nerveux résultant les signes cliniques observés chez le patient AVED via la génération du stress oxydatif causé par le déficit d'antioxydant vitamine E.

abstract assise.docx

P473 : Phénotype avec craniosténose et fragilité osseuse causé par une mutation unique du gène B3GAT3

Auteurs :

Kevin Yauy (1), Frederic Tran Mau Them (2, 3), Marjolaine Willems (2), Christine Coubes (2), Patricia Blanchet (2), Christian Herlin (4), Ikram Taleb Arrada (2, 5), Elodie Sanchez (3), Jean-Michel Faure (6), Marie-Pascale Le Gac (7), Olivier Prodhomme (5), Anne Boland (8), Vincent Meyer (8), Jean-Baptiste Rivière (9), Yannis Duffourd (9), Jean-François Deleuze (8), Thomas Guignard (10), Guillaume Captier (4), Mouna Barat-Houari (11), David Genevieve (2)

1. Laboratoire de Génétique Moléculaire, Institut Universitaire de Recherche Clinique, CHRU de Montpellier, Montpellier, France
2. Service de Génétique Clinique, Hopital Arnaud de Villeneuve, CHRU de Montpellier, Montpellier, France
3. Unité Inserm U1183, Hopital Saint Eloi, CHRU de Montpellier, Montpellier, France
4. Unité de Chirurgie Orthopédique et Plastique Infantile, Hopital Lapeyronie, CHRU de Montpellier, Montpellier, France
5. Service de Radiopédiatrie, Hopital Arnaud de Villeneuve, CHRU de Montpellier, Montpellier, France
6. Service de Gynécologie-Obstétrique et Centre Pluridisciplinaire de Diagnostic Prénatal, Hopital Arnaud de Villeneuve, CHRU de Montpellier, Montpellier, France
7. Service de Gynécologie-Obstétrique et Centre Pluridisciplinaire de Diagnostic Prénatal, CHU de Nîmes, Nîmes, France
8. Centre National de Génotypage, Institut de Génomique, CEA, Evry, France
9. Laboratoire de Génétique Moléculaire, Plateau technique de Biologie, CHU de Dijon, Dijon, France
10. Unité de Génétique Chromosomique, Hopital Arnaud de Villeneuve, CHRU de Montpellier, Montpellier, France
11. Laboratoire de Génétique des Maladies Rares et Auto-inflammatoires, Hopital Arnaud de Villeneuve, CHRU de Montpellier, Montpellier, France

Mots clefs : B3GAT3, séquençage de l'exome, syndrome d'Antley-Bixler, syndrome de Shprintzen-Goldberg, linkeropathies, craniosténose, fractures néonatales, synostose radioulnaire.

Résumé :

Objectif: Orienté par la combinaison de synostoses radioulnaires et d'une forme particulière du crâne suggérant une craniosténose, nous décrivons 6 patients de 4 familles consanguines pour lequel le syndrome d'Antley-Bixler (SAB) était suspecté pendant la période prénatale, sans mutation retrouvée dans les gènes connus du SAB.
Méthodes: Le diagnostic moléculaire a impliqué une stratégie de séquençage de l'exome et de panel de gènes.
Résultats: Tous les patients sequencés présentent une unique mutation homozygote c.667G > A, p.Gly223Ser (NM_012200) dans le gène de la bêta-1,3-glucuronyltransférase 3 (B3GAT3), impliqué dans les linkeropathies. Les linkeropathies correspondent à un groupe récemment identifié de syndromes génétiques hétérogènes présentant un spectre d'anomalies osseuses et du tissu conjonctif. Nos patients présentaient principalement une craniosynostose, une hypoplasie de l'étage moyen de la face, une synostose radioulnaire bilatérale, des fractures néonatales multiples, des articulations luxées, une contracture articulaire, des doigts longs, une déformation du pied et des anomalies cardiovasculaires. Tous sont morts avant l'âge de 1 an.
Conclusion: Nous avons identifié un nouveau phénotype lié à B3GAT3 avec craniosynostose et fragilité osseuse, causée par une unique mutation homozygote dans le gène B3GAT3. Ce syndrome devrait être évoqué en période prénatale devant la sévérité du phénotype et en tant que diagnostic différentiel du syndrome d'Antley-Bixler ou du syndrome de Shprintzen-Goldberg.

P474 : Apport du séquençage de nouvelle génération pour la caractérisation moléculaire de patients Algériens présentant un diagnostic clique de dystrophies musculaires des ceintures de type 2 (LGMD2)

Auteurs :

Amira Cherrallah (1), Sonia Nouioua (2), Tarik Hamadouche (3), Mathieu Cerino (4), Meriem Tazir (2), Martin Krahn (4, 5), Marc Bartoli (6), Traki Benhassine (7)

1. Laboratoire de Biologie Cellulaire et Moélculaire, 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. Service de Génétique Médicale, Hôpital de la Timone, Marseille, France
5. Inserm UMR910 "Génétique Médicale et Génomique Fonctionnelle", Faculté de Médecine de la Timone, Université de la Méditerranée, Marseille, France
6. Inserm UMR910 , Faculté de Médecine de la Timone, Université de la Méditerranée, Marseille, France
7. Laboratoire de Biologie Cellulaire et Moléculaire, FSB, USTHB, Bab Ezzouar, Alger, Algérie

Mots clefs : Séquençage de nouvelle génération, diagnostic génétique, LGMD2

Résumé :

Les dystrophies musculaires des ceintures de type 2 (LGMD2) représentent un large groupe de pathologies musculaires héréditaires d'une grande hétérogénéité phénotypique et génétique. Malgré une évaluation clinique critique et une analyse de la biopsie musculaire du patient, le diagnostic de ces pathologies reste difficile. En effet, une faible spécificité en biomarqueurs, l'hétérogénéité phénotypique et génétique les caractérisant, la grande taille des gènes incriminés, ainsi que les gènes inconnus à ce jour sont des éléments qui compliquent considérablement leur diagnostic moléculaire.
Afin de remédier à cette contrainte et complexité diagnostique, l'analyse de 306 gènes associés aux maladies neuromusculaires par séquençage de nouvelle génération ciblé a été effectuée. Ce travail a été réalisé pour 18 patients provenant de 5 familles présentant un phénotype LGMD2. Les variants pathogéniques sélectionnés ont été confirmés par séquençage Sanger.
L'analyse des données issues du séquençage à haut débit réalisé pour les cinq familles nous a permis de mettre en évidence le variant pathogène responsable du phénotype décrit pour chacune des familles. En effet, 6 mutations à l'état homozygote ont pu être sélectionnées : 3 dans le gène *DYSF* (c.5509G > A_p.Asp1837Asn, c.2643+1G > A et c.1834C > T_ p.Q612X), 1 dans le gène *LAMA2* (c.8244+1G > A), 1 dans le gène *GMPPB* (c.458c > T_p.Thr153Ile) et 1 dans le gène *CPT2* (c.338C > T_p.Ser113Leu). Tous les variants identifiés étaient en corrélation avec les caractéristiques cliniques décrites.
Grâce à une approche de séquençage à haut débit, nous avons pu caractériser sur un plan moléculaire des patients présentant une étiquette clinique de dystrophie musculaire des ceintures, ambigüe pour certains. Les résultats que nous avons obtenus montrent donc la puissance et l'efficacité du séquençage à haut débit pour le diagnostic des pathologies génétiquement hétérogènes. Cette approche s'est également révélée très utile dans l'analyse de gènes difficilement soupçonnables suite à un examen clinique classique.

Abstract assises de génétique 2018 (cherrallah A).docx

P475 : Le syndrome de Troyer : à propos de trois cas avec nouvelle mutation du gène SPG20

Auteurs :

Leïla Dardour (1, 2), Filip Roelens (3), Valerie Race (4), Maureen Holvoet (4), Koen Devriendt (4)

1. Centre for Human Genetics, KU Leuven and UZ Leuven, Leuven, Belgium, Belgique
2. Département de génétique médicale, Faculté de médecine de Sousse, Sousse, Tunisie
3. Neuropédiatrie, AZ Delta, Roeselare, Belgique
4. Center for Human Genetics, KU Leuven and UZ Leuven, Leuven, Belgium, Belgique

Mots clefs : Troyer, SPG20

Résumé :

Le syndrome de Troyer (MIM#275900) représente une forme autosomique récessive des paraplégies héréditaires spastiques complexes : un groupe hétérogène autant sur le plan clinique que génétique. Ce syndrome est caractérisé par une spasticité progressive des membres inférieurs ainsi qu'une faiblesse musculaire, une dysarthrie, une amyotrophie distale, un retard psychomoteur, une petite taille ainsi que des anomalies squelettiques mineures.
La cause de ce syndrome a été identifiée pour la première fois en 2002 chez la population Amish. Il s'agit de mutations délétères du gène *SPG20* localisé sur le chromosome 13q13, qui code pour la Spartine : protéine dont la perte de fonction serait le mécanisme physiopathologique responsable de la maladie. A ce jour, seulement six familles ont été rapportées dans la littérature. Nous décrivons une septième famille Marocaine consanguine, avec trois frères atteints, présentant tous une paraplégie spastique, une petite taille, un retard psychomoteur, ainsi qu'un déficit intellectuel sévère.
La capture et le séquençage ciblés des exons a permis de mettre en évidence une mutation non-sens du gène *SPG20* à l'état homozygote, c.1369C > T (p.Arg457*), chez les trois frères. Cette mutation a été également confirmée chez les deux parents à l'état hétérozygote.

P476 : Le syndrome de dysplasie ectodermique-syndactylie cutanée (EDSS1): à propos d'un cas avec nouvelle mutation du gène PVRL4

Auteurs :

Leïla Dardour (1, 2), Katrien Cosyns (3), Koen Devriendt (4)

1. Centre for Human Genetics, KU Leuven and UZ Leuven, Leuven, Belgium, Belgique
2. Département de génétique médicale, Faculté de médecine de Sousse, Sousse, Tunisie
3. Pédiatrie, Regionaal Ziekenhuis Tienen, Tienen, Belgique
4. Center for Human Genetics, KU Leuven and UZ Leuven, Leuven, Belgium, Belgique

Mots clefs : EDSS1, PVRL4

Résumé :

Le syndrome de dysplasie ectodermique-syndactylie cutanée (EDSS1, OMIM#613573) est une forme rare, autosomique récessive, de dysplasie ectodermique : un groupe de pathologies cliniquement et génétiquement hétérogènes caractérisées par une altération d'au moins deux dérivés ectodermiques incluant les cheveux, les ongles, les dents et les glandes sudoripares.
L'EDSS1 est due à des mutations du gène *PVRL4* qui code pour la nectin-4. Cinq mutations différentes dont 3 mutations faux-sens ont été décrites.
Nous décrivons ici, une patiente Turque, issue d'une famille consanguine qui présente cliniquement une EDSS1 et chez qui une nouvelle mutation faux-sens du gène *PVRL4* a été mise en évidence (c.247C>T, p.His83Tyr).

P477 - DPC : Séquençage haut débit et meilleure compréhension du spectre étiologique de la cardiomyopathie hypertrophique

Auteurs :

Sophie Mallet (1), Maguelonne Roux (1), Flavie Ader (2, 3), Erwan Donal (4), Pascal DeGroote (5), Laurence Faivre (6), Caroline Rooryck-Thambo (7), Annick Toutain (8), Nicolas Mansencal (9), Karine Nguyen (10), David Tregouet (2), Pascale RICHARD (11), Philippe Charron (12)

1. UMR 1166, Inserm , Paris, France
2. UMR 1166, Inserm, Paris, France
3. Servie de Biochimie, CHU Pitié-Salpêtrière , Paris, France
4. Service de Cardiologie, CHU Rennes, Rennes, France
5. Service de Cardiologie, CHU Lille, Lille, France
6. Service de Génétique, CHU Dijon, Dijon, France
7. Service de Génétique, CHU Bordeaux, Bordeaux, France
8. Service de Génétique, CHU Tours, Tours, France
9. centre de référence maladies cardiaques héréditaires, CHU Ambroise Paré, Paris, France
10. Service de Génétique, CHU Marseille, Marseille, France
11. centre de référence maladies cardiaques héréditaires, CHU Pitié-Salpêtrière , Paris, France
12. centre de référence maladies cardiaques héréditaires, CHU Ambroise Paré, Boulogne-Billancourt, France

Mots clefs : séquençage, cardiologie, cardiomyopathie, étiologie

Résumé :

Background and objective:
Hypertrophic Cardiomyopathy (HCM) is one of the leading causes of sudden cardiac death in young adults, with a prevalence of 1/500 in the general population. HCM is a genetic disease usually related to a sarcomeric gene mutation. Despite advances in knowledge, elucidation of the genetic cause is reached in only 30-60% of cases with conventional Sanger sequencing and analysis of a limited number of genes (usually the five major sarcomeric genes). We hypothesized that high-throughput sequencing of a large panel of genes will allow a more comprehensive evaluation of the etiologic spectrum of HCM.
Methods and Results:
We used high-throughput sequencing technology, with a panel of 107 genes (all the various cardiomyopathies and arrhythmia genes) that we recently developed (Nimblegen capture then Illumina MiSeqsequencing), in a cohort of 97 unrelated patients with HCM. We detected 2740 variants including 99 variants that we classified as pathogenic using restrictive criteria. A pathogenic mutation was identified (i) in 31 patients (32% of cohort of patients) in the group of 5 conventional sarcomeric genes (MYBPC3, MYH7, TNNT2, MYL2, TNNI3) including patients with multiple mutations, (ii) in 8 patients (8%) with a mutation in the group of additional sarcomeric genes (such as MYH6), (iii) in 4 patients (4%) with a mutation in the group of non-sarcomeric genes previously associated to HCM (such as GLA responsible for Fabry disease) and (iv) in additional patients with a mutation in new genes not yet reported in HCM (such as AKAP9).
Conclusion:
High-throughput sequencing of a large panel of genes associated with hereditary heart diseases allowed us to determine the large genetic spectrum of HCM. We confirmed the prominent role of sarcomeric genes, highlighted the role of non-sarcomeric causes (some with specific therapeutics), and identified mutations in potential new genes responsible for the disease.

Abstract NGS HCM Assises Genet janv 2018.docx

P478 - DPC : Histoire naturelle et stratification du risque d'arythmie et d'insuffisance cardiaque dans les laminopathies : analyse d'une cohorte monocentrique de 101 patients

Auteurs :

Carole MAUPAIN (1), Marine Thuillot (2), Estelle Gandjbakhch (1), Xavier Waintraub (2), Francoise Hidden-Lucet (2), Richard Isnard (1), Eric Villard (3), Flavie Ader (3, 4), Pascale Richard (3, 4), Philippe Charron (5)

1. centre de référence maladies cardiaques héréditaires, CHU Pitié-Salpêtrière , Paris, France
2. Service de Cardiologie, CHU Pitié-Salpêtrière, Paris, France
3. UMR 1166, Inserm, Paris, France
4. Servie de Biochimie, CHU Pitié-Salpêtrière , Paris, France
5. centre de référence maladies cardiaques héréditaires, CHU Ambroise Paré, Boulogne-Billancourt, France

Mots clefs : cardiologie, laminopathie, LMNA, mort subite, insuffisance cardiaque

Résumé :

Contexte Les manifestations cardiaques des porteurs de mutation du gène LMNA codant les lamines A/C, ou « laminopathies », peuvent associer des troubles du rythme (atriaux et ventriculaires), des troubles conductifs (bloc atrio-ventriculaire, dysfonction sinusale) et/ou une cardiomyopathie dilatée (CMD). L'histoire naturelle et l'évolution rythmique et non rythmique des laminopathies sont mal connues.
Objectifs Décrire l'histoire naturelle du phénotype cardiaquedes porteurs d'une mutation du gène LMNA et identifier des facteurs de risque pronostiques de décès cardiovasculaire, d'événement rythmique et d'insuffisance cardiaque.
Méthodes Dans cette cohorte monocentrique de 101 patients porteursd'une mutation du gène LMNA, nous avons recueilli de manière rétrospective les caractéristiques initiales des patients au diagnostic et les évènements cardio-vasculaires lors d'un suivi actualisé. Les facteurs prédictifs de décès cardiovasculaire, d'arythmie ventriculaire grave et d'insuffisance cardiaque ont été évalués par une analyse de régression de Cox multivariée.
Résultats Deux patients ont été perdus de vue. Parmi les 99 autres patients (55.5% femmes, âge moyen 42+/-13 ans), et après un suivi moyen de 4 ans, 16 (16.1%) sont décédés de cause cardio-vasculaire et principalement d'insuffisance cardiaque (81%).Concernant les évènements composites de morbi-mortalité, 23.2% des patients ont présenté un événement combiné « insuffisance cardiaque », dont 65 % en relation avec une transplantation cardiaque, et 17.2% patients ont présenté un événement combiné « arythmie ventriculaire grave », alors que 47,4% étaient porteurs d'un défibrillateur automatique implantable durant le suivi. Le stade NYHA ≥ 2 et la présence d'une arythmie ventriculaire grave au diagnostic étaient associés aux décès cardio-vasculaires et à la survenue d'une « insuffisance cardiaque ». Les facteurs de risque indépendants « d'arythmie ventriculaire grave » étaient le sexe masculin, le stade NYHA ≥ 2 et l'antécédent familial de mort subite au premier degré.
Conclusion L'histoire naturelle des laminopathies est associée à une forte incidence d'événements cardiovasculaire graves. L'analyse d'une large cohorte monocentrique a permis d'identifier diversfacteurs prédictifs d'événements cardiovasculaires, novateurs concernant la prédiction d'insuffisance cardiaque et distincts des données de la littérature concernant la prédiction d'arythmie ventriculaire. Ces facteurs prédictifs nécessitent une confirmation dans une population indépendante en cours de recrutement.

P479 : Analyses structure-fonction : une aide précieuse pour l'interprétation de variants rares du gène SLC40A1 et la compréhension des bases moléculaires de l'hémochromatose de type 4.

Auteurs :

Julie Guellec (1), Chandran Ka (1), Kévin Uguen (1), Marlène Le Tertre (1), Isabelle Gourlaouen (1), Claude Férec (1), Isabelle Callebaut (2), Gérald Le Gac (1)

1. Inserm UMR 1078, Laboratoire de Génétique Moléculaire et Histocompatibilité, CHRU de Brest, Hôpital Morvan, Université Bretagne Loire – Université de Bretagne Occidentale, Etablissement Français du Sang – Bretagne, Institut Brestois Santé AgroMatière, Brest, France., Brest, France
2. IMPMC, UMR 7590 CNRS, Université Pierre & Marie Curie, Paris, France, Brest, France

Mots clefs : hémochromatose, ferroportine, diagnostic, variants rares, analyses structure/fonction

Résumé :

Introduction : L'hémochromatose (HC) de type 4, ou maladie de la ferroportine, est une maladie rare du métabolisme du fer causée par des mutations ponctuelles du gène *SLC40A1* et transmise selon le mode autosomique dominant. La protéine SLC40A1 est la seule protéine capable d'exporter le fer vers le compartiment sanguin. Son expression membranaire est régulée par l'hepcidine, un peptide d'origine hépatique qui joue un rôle clé dans le maintien de l'homéostasie du fer. Les mutations du gène *SLC40A1* se divisent en deux catégories fonctionnelles (perte et gain-de-fonction) et permettent d'expliquer deux phénotypes distincts (HC de types 4A et 4B). Plus de 50 variations faux-sens ont été associées à des phénotypes plus ou moins sévères de surcharge en fer. En raison de la multiplication de cas isolés dans la littérature et de l'existence de nombreuses causes de surcharges en fer secondaires, la pathogénicité de certains variants reste cependant discutable.
Objectif : L'exploitation d'un premier modèle tridimensionnel de SLC40A1 nous avait permis de réaliser l'étude structure/fonction de 18 variations faux-sens identifiées chez 44 patients suspects d'hémochromatose (1). Ce modèle avait été construit par homologie avec la structure expérimentale de la protéine bactérienne EmrD (2). La publication récente de structures cristallographiques d'un homologue bactérien de SLC40A1 (3) nous permet de prendre en compte l'ensemble du mécanisme d'export du fer à travers la bicouche lipidique (alternance entre deux conformations extrêmes : «inward» et «outward») et de proposer de nouveaux mécanismes physiopathologiques.
Résultats : Des tests fonctionnels *in vitro* ont permis de déterminer le niveau d'expression membranaire (cytométrie en flux), la capacité à exporter le fer (dosages de ^{55}Fe) et le niveau d'ubiquitination en présence d'hepcidine de 38 protéines SLC40A1 porteuses d'une ou deux substitutions. Le choix des mutations était guidé par : i) une analyse fine des modèles « inward » et « outward » de la protéine humaine, ii) la probabilité d'une interaction directe entre les résidus testés et le fer ou l'hepcidine, iii) l'identification de liaisons stabilisant un état conformationnel donné de SLC40A1, et iv) le besoin de caractériser de nouveaux variants de signification inconnue (n=20).
Conclusions : Nous établissons les bases d'un nouveau mécanisme moléculaire du type perte de fonction. Ce mécanisme permet de rendre compte de l'effet de mutations qui abolissent des interactions essentielles à la stabilisation de conformères du cycle de transport de SLC40A1. Nous parvenons également à une meilleure définition du site de liaison du fer et des mécanismes de résistance à l'hepcidine. Globalement, nous démontrons la puissance de la stratégie employée pour l'interprétation fonctionnelle de variants de signification inconnue au regard de prédictions *in silico*.
(1) Callebaut *et al*, Hum Mol Genet (2014)
(2) Le Gac *et al*, Hum mut (2013)
(3) Taniguchi *et al*, Nature (2015)

AGHM_StructureFonction_V3.doc

P480 : Identification par séquençage à haut débit de deux mutations du gène GNPTG chez une famille Marocaine avec sclerodermie

Auteurs :

AbdelAli ZRHIDRI (1), Saadia Amasdl (1), Jaber Lyahyai (2), Hanane Elouardi (3), Bouchra Chkirate (3), Laure Raymond (4), Grégory Egéa (4), Mohamed Taoudi (4), Said EL Mouatassim (4), Abdelaziz Sefiani (2, 5)

1. Centre de génomique humaine, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université Mohammed V Souissi, Rabat, Morocco. , Centre de génomique humaine, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université Mohammed V Souissi, Rabat, Morocco. , rabat, Maroc
2. Centre de génomique humaine, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université Mohammed V Souissi, Rabat, Morocco. , Centre de génomique humaine, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université Mohammed V Souissi, Rabat, Morocco. , Rabat, Maroc
3. Département de pédiatrie médicale, Hôpital d'Enfant, Rabat,Morocco., Département de pédiatrie médicale, Hôpital d'Enfant, Rabat,Morocco., Rabat, Maroc
4. Département de Génétique Moléculaire, Laboratoire Biomnis, Lyon,France., Département de Génétique Moléculaire, Laboratoire Biomnis, Lyon,France., lyon, France
5. Département de Génétique Médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Morocco., Département de Génétique Médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Morocco., Rabat, Maroc

Mots clefs : Mucolipidosis III gamma; GNPTG; whole exome sequencing

Résumé :

Introduction: Scleroderma is a multisystem disease, characterized by fibrosis of skin and internal organs, immune dysregulation, and vasculopathy. The etiology of the disease remains unknown, but it is likely multifactorial. However, the genetic basis for this condition is defined by multiple genes that have only modest effect on disease susceptibility.
Material and Methods: Three Moroccan siblings, born from non-consanguineous Moroccan healthy parents were referred for genetic evaluation of familial scleroderma. Whole Exome Sequencing was performed in the proband and his parents, in addition to Sanger sequencing that was carried out to confirm the results obtained.
Results: Mutation analysis showed two compound heterozygous mutations c.196C > T in exon 4 and c.635_636delTT in exon 9 of *GNPTG* gene. Sanger sequencing confirmed these mutations in the affected patient and demonstrated that their parents are heterozygous carriers.
Conclusion: Our findings expand the mutation spectrum of the *GNPTG* gene and extend the knowledge of the phenotype–genotype correlation of Mucolipidosis Type III gamma. This report also highlights the diagnostic utility of Next Generation Sequencing particularly when the clinical presentation did not point to specific genes.

P481 : Syndrome de Stormorken et York platelet syndrome partagent la même mutation de STIM1 et les même anomalies plaquettaires en microscopie électronique

Auteurs :

Gilles Morin (1), Valérie Li Thiao Te (2), Guillaume Jedraszak (3), Florence Jobic (1), Michèle Mathieu-Dramard (1), Bertrand Roussel (4), Jean-Claude Bordet (5), Jacques Rochette (6)

1. Service de Génétique Clinique et Oncogénétique, CHU Amiens, Amiens, France
2. Service d'Onco-Hématologie Pédiatrique, CHU Amiens, Amiens, France
3. Laboratoire de Cytogénétique et Biologie de la Reproduction, CHU Amiens, Amiens, France
4. Laboratoire d'hématologie - Centre de Biologie Humaine, CHU Amiens, Amiens, France
5. Laboratoire d'hémostase, Hôpital Edouard Herriot - CHU Lyon, Lyon, France
6. Laboratoire de Génétique Moléculaire Médicale - EA4666, CHU Amiens - Université de Picardie Jules Verne, Amiens, France

Mots clefs : syndrome de Stormorken, York platelet syndrome, STIM1, ORAI1, thrombopathie, thrombopénie, microscopie électronique, myosis, asplénie, myopathie à agrégats tubulaires, ichtyose

Résumé :

En 1985, Stormorken et coll décrivaient un nouveau phénotype particulièrement complexe associant une thrombopathie avec thrombopénie, une fatigue musculaire, une asplénie, un myosis, une migraine, une dyslexie et une ichtyose. Cette pathologie était observée dans une famille norvégienne chez une mère et son fils, suggérant une origine génétique et une transmission autosomique dominante. En 2000, Mizobuchi et coll observèrent cette entité chez une mère et sa fille dans une famille japonaise, mettant en évidence la présence d'agrégats tubulaires sur leur biopsie musculaire. En 2014, trois groupes dont le nôtre (Morin et coll, Nesin et coll, Misceo et coll) découvrirent que le « syndrome de Stormorken » (OMIM 185070) était dû à une mutation gain-de-fonction spécifique [c.910C > T ; p.(Arg304Trp)] du gène *STIM1*. Ce gène code un détecteur intracellulaire de calcium qui active physiologiquement l'ouverture du canal calcique ORAI1, permettant aux réserves intracellulaires de calcium de se reconstituer lorsque celles-ci baissent. La mutation, située juste à côté de l'hélice inhibitrice de STIM1, semble activer anormalement l'ouverture d'ORAI1, ce qui favorise l'entrée intracellulaire de calcium, même lorsque les réserves sont pleines.
Indépendamment White et coll rapportèrent en 2003 une pathologie plaquettaire autosomique dominante se caractérisant en microscopie électronique par la présence de deux types d'organelles plaquettaires anormales qu'ils appelèrent corps denses et corps en cible. Ces organelles se différenciaient des anomalies observées dans toutes les autres maladies plaquettaires héréditaires connues. Ils nommèrent cette pathologie « York platelet syndrome » et la décrivirent dans plusieurs autres familles. En 2015, ce même groupe (Markello et coll, 2015) découvrit que cette entité était, comme le syndrome de Stormorken, consécutif à la mutation c.910C > T [p.(Arg304Trp)] du gène *STIM1*. Les patients atteints de York platelet syndrome partageaient avec les patients atteints de syndrome de Stormorken l'existence d'une thrombopathie souvent associée à une thrombopénie, d'une faiblesse musculaire avec à la biopsie la présence de vacuoles bordée (rimmed vacuoles) ressemblant fortement à des agrégats tubulaires. Certains patients atteints de York platelet syndrome avaient aussi un myosis ou une hypoplasie splénique.
Etant donné que ces deux syndromes étaient secondaires à la même mutation du gène *STIM1* et que les patients partageaient une ressemblance phénotypique indéniable, nous avons formulé l'hypothèse qu'ils devaient constituer une seule et même entité, même si probablement ils avaient été investigués par des procédures différentes. Dans ce travail, nous montrons pour la première fois que les anomalies plaquettaires observées en microscopie électronique dans le York platelet syndrome sont aussi présentes dans les plaquettes d'un patient atteint de syndrome de Stormorken, ce qui plaident en faveur d'une seule et même pathologie.

P482 : Enamel-renal syndrome : deux nouvelles familles non consanguines confirmées par l'identification de mutations dans le gène FAM20A

Auteurs :

Michèle Mathieu-Dramard (1), Rosa Vargas-Poussou (2), Lydia Lichtenberger (3), Florence Jobic (1), Guillaume Jedraszak (4), Sophie de Broca (5), Gilles Morin (1)

1. Service de Génétique Clinique et Oncogénétique, CHU Amiens, Amiens, France
2. Département de Génétique, Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris, France
3. Médiatrie médicale, CHU Amiens, Amiens, France
4. Laboratoire de Cytogénétique et Biologie de la Reproduction, CHU Amiens, Amiens, France
5. Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie, CHU Amiens, Amiens, France

Mots clefs : enamel-renal syndrome, amélogénèse imparfaite de type IG, FAM20A, néphrocalcinose, transmission autosomique récessive

Résumé :

L'amélogénèse imparfaite est un ensemble de pathologies ayant pour conséquence l'apparition d'anomalies sévères touchant les deux dentitions : dents lactéales de petite taille et jaunâtres par défaut de l'émail, rétentions, agénésies dentaires, racines courtes et anomalies pulpaires des dents définitives. Elle peut être isolée ou syndromique, justifiant chez le patient un examen clinique complet et des explorations complémentaires. Associée à une néphrocalcinose et/ou une hypertrophie gingivale, l'amélogénèse imparfaite est maintenant désignée par le terme d' « enamel-renal syndrome » ou d' « amélogénèse imparfaite de type IG » (OMIM 204690). Cette entité est consécutive à la présence de mutations bialléliques du gène *FAM20A*, codant une protéine impliquée dans la fabrication et la maturation de l'émail, ce qui explique le phénotype dentaire. En revanche le rôle de cette protéine dans l'apparition de l'atteinte rénale reste incertain. L'enamel renal syndrome est une pathologie extrêmement rare, de transmission autosomique récessive, qui s'exprime le plus souvent au sein de familles consanguines.
Nous rapportons l'observation de deux nouveaux patients appartenant à deux familles différentes et non consanguines. Le premier patient, âgé de 14 ans, présentait une amélogénèse imparfaite associée à une néphrocalcinose dont la découverte a été fortuite vers l'âge de 6 ans, dans un contexte de douleurs abdominales. Cette néphrocalcinose ne semblait pas avoir de conséquence sur sa fonction rénale. Son examen clinique, notamment neurologique, et sa croissance staturo-pondérale étaient sans particularité. L'analyse moléculaire de *FAM20A* permettait d'identifier chez lui deux mutations à l'état hétérozygote : c.1192G > T [p.(Asp398Tyr)] et c.1228_1229del [p.(Asp410Profs*5)]. Le second patient, âgé de 6 ans, nous était adressé pour une amélogénèse imparfaite a priori non syndromique. Son examen clinique était, en dehors de l'atteinte dentaire, sans particularité et son échographie rénale ne montrait pas d'élément en faveur d'une néphrocalcinose. L'étude moléculaire de *FAM20A* permettait d'identifier trois mutations a l'état hétérozygote, deux non-sens et une faux-sens : c.826C > T [p.(Arg276*)], c.1369A > T [p.(Lys457*)] et c.1517T > A [p.(Leu506Gln)].
Ces deux observations confirment que l'émergence de maladies très rares de transmission autosomique récessive est également possible au sein de familles non consanguines. L'absence de néphrocalcinose chez le second patient ne remet pas en cause le diagnostic d'enamel renal syndrome et souligne que des mutations de *FAM20A* doivent aussi être recherchées lorsqu'une amélogénèse imparfaite parait isolée. En effet, cette atteinte est inconstante, silencieuse et le plus souvent observée plus tardivement dans la vie. Cette progressivité, ainsi que la possibilité de répercussions sur la fonction rénale justifient l'organisation d'une surveillance néphrologique rigoureuse chez ces patients.

P483 : A 2 bp deletion in the mitochondrial ATP 6 gene responsible for the NARP (Neuropathy, ataxia, and retinitis pigmentosa) syndrome

Auteurs :

Patrick Mordel (1), Stéphane Schaeffer (2), Quentin Dupas (1), Marie-Alice Laville (3), Marion Gérard (4), Françoise Chapon (2), Stéphane Allouche (5)

1. Signalisation, électrophysiologie et imagerie des lésions d'ischémie-reperfusion myocardique, Caen, F-14032, France, Normandie Univ, UNICAEN, CHU Caen, , Caen, France
2. Neuromuscular Competence Center, Caen, F-14032, France, CHU de Caen, Caen, France
3. Department of ophthalmology, Caen, F-14032, France., CHU de Caen, Caen, France
4. Department of medical genetics, Caen, F-14032, France, CHU de Caen, Caen, France
5. Biochimie, CHU de Caen, Caen, France

Mots clefs : Mitochondrial disease; Complex V deficiency; Next generation sequencing; ATP6 deletion; NARP syndrome

Résumé :

Mitochondrial (mt) DNA-associated NARP (neurogenic muscle weakness, ataxia, and retinitis pigmentosa) syndrome is due to mutation in the MT-ATP6 gene.
We report the case of a 18-year-old man who presented with deafness, a myoclonic epilepsy, muscle weakness since the age of 10 and further developed a retinitis pigmentosa and ataxia. The whole mtDNA analysis by next-generation sequencing revealed the presence of the 2 bp microdeletion m.9127-9128 del AT in the ATP6 gene at 82% heteroplasmy in muscle and to a lower load in blood (10-20%) and fibroblasts (50%). Using the patient's fibroblasts, we demonstrated a 60% reduction of the oligomycin-sensitive ATPase hydrolytic activity, a 40% decrease in the ATP synthesis and determination of the mitochondrial membrane potential using the fluorescent probe tetramethylrhodamine, ethyl ester indicated a significant reduction in oligomycin sensitivity.
In conclusion, we demonstrated that this novel AT deletion in the ATP6 gene pathogenic and responsible for the NARP syndrome.

P484 : Le déficit en protéine D bi-fonctionnelle peroxysomale: à propos d'un cas.

Auteurs :

Faten Hsoumi (1), Houweyda Jilani (1), Imen Rejeb (1), Mariem Cheouch (1), Yasmina Elaribi (1), Syrine Hizem (1), David Cheillan (2), Sonia Halioui (3), Lamia Ben Jemaa (1)

1. Service de maladies congénitales et héréditaires, Hôpital Monji Slim, la Marsa, La Marsa, Tunisie
2. Laboratoire de biologie médicale multi-sites , CHU de Lyon, France., Lyon, France
3. Service de pédiatrie et de néonatalogie, Hôpital Monji Slim, la Marsa, La Marsa, Tunisie

Mots clefs : protéine D bi-fonctionnelle peroxysomale, béta oxydation, hypotonie néonatale, maladie métabolique

Résumé :

Introduction:
Le déficit en protéine D bi-fonctionnelle peroxysomale est une maladie métabolique rare due à une mutation du gène *HSD17B4* qui code pour une enzyme de la béta oxydation. Son déficit donne un tableau neurologique néonatal grave associant hypotonie et convulsions. Le pronostic est sombre avec un décès avant l'âge de 2 ans.
Objectif:
Apport de l'étude génétique dans le diagnostic d'une maladie très rare.
Patiente et méthode:
Il s'agit d'un nourrisson de sexe féminin âgé de 1 mois, issu d'un mariage consanguin. Ses parents et ses deux sœurs sont bien portants. L'enquête génétique est négative. A la naissance, elle avait une hypotonie sévère, des convulsions et des fontanelles larges.
A l'examen, elle avait une dysmorphie faciale avec un faciès triangulaire, deux bosses frontales, une rétraction bitemporale, un nystagmus et une hypotonie axiale. Par ailleurs, le développement psychomoteur était retardé. La patiente est décédée à l'âge de 14 mois dans un tableau de détresse neurologique.
Résultats:
Le caryotype était normal. Devant l'hypotonie néonatale, le syndrome de Prader-Willi a été évoqué mais éliminé par l'étude de la méthylation du chromosome 15. L'IRM cérébrale a montré une hypoplasie du corps calleux et une dysplasie polymicrogyrique bi-operculaire. Le bilan radiologique a montré une scoliose. L'échographie abdominale était normale.
Devant le tableau neurologique, l'aspect radiologique et le décès précoce, le syndrome de Zellweger a été suspecté. La confirmation enzymatique n'a pu être faite à cause du décès de la patiente. Un panel de gènes des maladies peroxysomales a mis en évidence une mutation homozygote du gène *HSD17B4* confirmant le diagnostic de déficit en protéine D bi-fonctionnelle peroxysomale. L'étude des parents a retrouvé la mutation à l'état hétérozygote.
Conclusion:
Le déficit en protéine D bi-fonctionnelle peroxysomale est une entité cliniquement similaire au syndrome de Zellweger dont la cause génétique est différente. Le diagnostic doit être évoqué devant une hypotonie et des convulsions néonatales associées à une dysmorphie faciale caractéristique. Une connaissance de la mutation en cause est très importante afin d'orienter le conseil génétique dans la famille.

Abstarct pseudo zellweger.docx

P485 : Prise en charge étiologique d'une oroticurie : établir une démarche diagnostique à partir d'une cohorte d'enfants présentant une excrétion urinaire d'acide orotique

Auteurs :

Magali REYNOLD DE SERESIN (1), Johannes A. MAYR (2), Diana BALLHAUSEN (3), Helena SANTOS (4), Damien MASSON (5), Cécile ACQUAVIVA-BOURDAIN (6), Alice KUSTER (7)

1. Réanimation néonatale, CHU de Nantes, Hôpital Mère-Enfant, Nantes, France
2. Center for the diagnosis of mitochondrial disorders, Paracelsus Medical University, Department of paediatrics, Salzburg, Autriche
3. Centre des maladies moléculaires, CHU Vaudois, Département Femme-Mère-Enfant, Lausanne, Suisse
4. Pediatria, Doenças metabolicas, Centro hospitalar Vila Nova de Gaia/Espinho, Vila Nova de Gaia, Portugal
5. Laboratoire de biochimie spécialisée, CHU de Nantes, Hôtel-Dieu, Nantes, France
6. Maladies héréditaires du métabolisme, CHU de Lyon, HCL-GH Est, Centre de biologie et Pathologie Est, Bron, France
7. Réanimation pédiatrique, CHU de Nantes, Hôpital Mère-Enfant, Nantes, France

Mots clefs : Déficit du cycle de l'urée, hyperammoniémie, orotate, OTC, pyrimidines, UMPS

Résumé :

CONTEXTE
L'orotate est un métabolite intermédiaire de la synthèse des pyrimidines. Son excrétion excessive urinaire est associée à des troubles métaboliques accessibles aux thérapeutiques, soit du cycle de l'urée, soit du métabolisme des pyrimidines. Etablir un diagnostic correct et opportun chez un patient atteint d'acidurie orotique est indispensable à la mise en place d'un traitement efficace et adapté, avant la survenue des complications liées à chaque étiologie. L'objectif de cette étude était d'établir un pas à pas diagnostique à partir des explorations métaboliques et génétiques de patients présentant une oroticurie.
METHODES
Nous avons conduit une étude prospective monocentrique au centre hospitalier universitaire de Nantes, en incluant, de mai 2015 à septembre 2017, les enfants présentant une élévation de l'excrétion urinaire d'orotate. Nous avons collecté les données cliniques, radiologiques, biochimiques et génétiques de ces patients.
RESULTATS
Huit patients âgés de 8 jours à 5 ans au diagnostic d'oroticurie ont été suivis dans cette étude. Nous avons retrouvé une élévation de l'excrétion urinaire d'orotate chez quatre des mères de ces enfants. Les explorations biochimiques ont permis d'isoler 2 patients dont le profil était en faveur d'un déficit en OTC avec hyperammoniémie et excrétion d'uracile. Les analyses génétiques ont permis d'isoler chez un de ces patient un variant du gène *OTC* dans la région 5'UTR : c.-147_-146insTCTCTTC. Par ailleurs nous avons mis en évidence chez trois autres patients un variant muté hétérozygote dans l'exon 3 du gène *UMPS* : c.768delA (p.Ser257Leufs*13), c.802C>T (p.Gln268*) et c.515C>T (p.Ser172Leu).
CONCLUSION
Notre étude a permis de montrer la diversité des phénotypes associés à l'élévation de l'excrétion urinaire d'orotate. Cette étude illustre l'intérêt de la complémentarité des analyses biochimiques et génétiques. Les différentes explorations métaboliques effectuées au cours de notre étude nous ont permis de développer un arbre diagnostique pouvant aider à la prise en charge étiologique et thérapeutique devant une oroticurie.

résumé assises genetique.docx

P486 : SATB2 et ostéoporose : analyses biologiques et radiologiques de 20 patients

Auteurs :

Marion Mouille (1), Marlene Rio (1, 2), sylvain Breton (3), alexandra afenjar (4), jeanne amiel (1), yline capri (5), Marine fouillet desjonqueres (6), alice goldenberg (7), caroline michot (1), Cyril mignot (4, 8), laurence perrin (5), audrey putoux (9), chloe quelin (10), julien Van Gills (11), giulia barcia (12), véronique pingault (2), jean-claude souberbielle (13), valerie cormier-daire (1, 2)

1. service de génétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, APHP, Paris, France
2. INSERM UMR 1163, Institut Imagine, Université Paris Descartes Sorbonne Paris Cité, Paris, France
3. service de radiologie, Hôpital Necker-Enfants Malades, APHP, Paris, France
4. service de génétique, Hôpital Trousseau, APHP, Paris, France
5. service de génétique, Hôpital Robert Debré, APHP, Paris, France
6. service de pédiatrie, CHU Lyon, Lyon, France
7. service de génétique, CHU Rouen, rouen, France
8. service de génétique, Hôpital Pitié salpétrière, APHP, Paris, France
9. service de génétique, CHU Lyon, Lyon, France
10. service de génétique, CHU Rennes, rennes, France
11. service de génétique, CHU Bordeaux, bordeaux, France
12. 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
13. Laboratoire d'explorations fonctionnelles, Hôpital Necker-Enfants Malades, APHP, Paris, France

Mots clefs : SATB2, ostéoporose, ostéopénie, macrodontie, déficience intellectuelle, anomalie squelettique

Résumé :

Les altérations du gène *SATB2* sont responsables d'une déficience intellectuelle syndromique cliniquement reconnaissable. Les signes caractéristiques sont une déficience intellectuelle prédominant sur le langage, une dysmorphie faciale, une fente palatine et/ou un palais étroit, des anomalies dentaires, en particulier une macrodontie.
A ce jour, une cinquantaine de patients a été rapportée dans la littérature. Des observations cliniques récentes et isolées retrouvent des anomalies squelettiques telles que l'incurvation tibiale, une fragilité osseuse ou de l'ostéoporose.
Le rôle de SATB2 dans la régulation du développement squelettique a été récemment démontré. En effet, SATB2 est un régulateur du promoteur Osx, lui-même à l'origine de la différenciation des cellules mésenchymateuses en ostéoblastes. SATB2 est un facteur de transcription de différenciation des ostéoblastes. A ce jour, la prise en charge des patients portant une mutation *SATB2* n'est pas encore harmonisée et formalisée par des recommandations officielles.
Dans ce contexte, nous avons décidé d'effectuer une recherche non interventionnelle, multicentrique visant à comprendre les mécanismes qui conduisent à une ostéopénie voire une ostéoporose chez les patients porteurs d'une mutation du gène *SATB2*.
Pour cela, nous avons réalisé chez les patients un bilan phosphocalcique exhaustif comprenant des marqueurs d'ostéoformation et d'ostéorésorption. Nous avons également revu les radiographies de squelette et l'ostéodensitométrie.
Nous rapportons les caractéristiques phénotypiques de 20 individus âgés de 4 à 24 ans, non apparentés, porteurs d'une mutation du gène *SATB2* survenue de novo. Les premières analyses objectivent une déminéralisation osseuse précoce mais également des variations biologiques communes et des particularités radiologiques paraissant spécifiques.

Nous espérons que ces résultats permettront la mise en place de bonnes pratiques sur la prise en charge.

P487 : Etude des variations géniques entre le diagnostic et la rechute dans les LAL pédiatriques

Auteurs :

Olivier Theisen (1), Catherine Godon (1), Rialland Fanny (2), Caroline Thomas (2), Audrey Grain (2), Yannick Le Bris (1), Marie-christine Bene (1), Marion Eveillard (1)

1. Laboratoire d'hématologie, CHU Nantes, Nantes, France
2. Oncologie Pédiatrique, CHU Nantes, Nantes, France

Mots clefs : SNParray, comparaison diagnostic rechute, leucémie aiguë lymphoblastique

Résumé :

Introduction
Les LAL pédiatriques sont le plus fréquent des cancers de l'enfant mais l'avènement de thérapeutiques intensives permet d'obtenir une guérison dans plus de 90% des cas.
Cependant, 1/5 de ces enfants va rechuter. Pour identifier des marqueurs prédictifs de rechute ou de mauvais pronostic, nous avons comparé les caractéristiques biologiques d'échantillons appariés diagnostic /rechute de 7 patients atteints de LAL pédiatrique.
Méthodes
La cohorte comportait 3 garçons et 4 filles, âgés de 6 mois à 19 ans (4 ans d'âge médian) Les échantillons ont été comparés en cytométrie en flux, en cytogénétique (caryotype et FISH) et en biologie moléculaire (recherche des mutations TP53 par technique Sanger).
Une étude plus approfondie du génome des échantillons appariés a été réalisée par SNP array (Affymetrix) à la recherche d'altérations du nombres de copies (CNA) et de pertes d'hétérozygotie (LOH).
Résultats
La stratification des risques pronostiques cytogénétiques au diagnostic était : bon pour 3 patients, intermédiaire pour 2 et mauvais pour 2. La technique de SNP-array montre en moyenne 10 CNA et 3 LOH par prélèvement avec 4 variations entre le diagnostic et la rechute. On retrouve des hots spots de réarrangements : la région 9p (gènes CDKN2A/2B, PAX5 et JAK2) pour 5 patients et la région 12p (gène ETV6) pour 3 patients. Présence de réarrangements impactant la voie : JAK/STAT : CNA impactant JAK2 pour 2 patients au diagnostic et à la rechute ; et la voie RAS/MAPk avec LOH impactant le gène NRAS pour 1 patient au diagnostic et à la rechute.
La classification des risques génétiques des LAL pédiatriques proposée par Moorman[TO1] et al qui étudie le statut d'un set de 8 gènes (IKZF1,CDKN2A/2B, PAR, BTG1, EBF1, PAX5, ETV6 et RB1) aurait donné avec l'étude de ce panel de gènes pour les 7 prélèvements diagnostics : 3 bon risque génétique et 4 mauvais risque génétique, permettant de reclasser 2 patients de risque cytogénétique intermédiaire, à caryotype normal, dans le groupe de mauvais pronostic ; ils auraient pu bénéficier d'un traitement plus intensif telle qu'une allogreffe.
Par ailleurs, 2 patients ont acquis une délétion d'IKZF1, déjà décrite comme étant de mauvais pronostic. Aucune altération de TP53 n'a été observée, ni au diagnostic ni à la rechute.
Conclusion
L'analyse par SNP array a permis d'identifier des anomalies non visibles au caryotype chez tous les enfants testés avec modification de la valeur pronostique des anomalies du diagnostic.
En outre, l'identification d'anomalies dans la voie JAK / STAT permettrait un traitement par les inhibiteurs de la tyrosine kinase.
Cette technologie combinée aux analyses classiques du diagnostic pourrait modifier les options thérapeutiques dans les LAL de l'enfance, en particulier dans le sous-groupe avec un caryotype normal

– [TO1]Réf : Moorman et al : A novel integrated cytogenetic and genomic classification refines risk stratification in pediatric acute lymphoblastic leukemia, Blood 124(9) 1434-1443, 2014

Etude des variations géniques entre le diagnostic et la rechute des LAL pédiatriques modif olivier.docx

P488 : Apport du séquençage nouvelle génération dans l'étiologie des lithiases intrahépatiques : expérience du réseau national « Hereditary Cholestasis and choleLithiasis»

Auteurs :

Anne Spraul-Davit (1), Yves Chrétien (2), Franck Broly (3), Chantal Gendrot (4), Christian Andres (5), Béatrice Parfait (6), Minh-Tuan Huynh (7), Olivier Lascols (8), Isabelle Jéru (9), Véronique Barbu (10), FILFOIE Filière (11)

1. Laboratoire de Biochimie Pôle Biologie – Pathologie – Pharmacie – Santé publique, Centre Hospitalier Universitaire de Bicêtre, Kremlin-Bicêtre, France
2. Equipe Housset, CdR St Antoine , UMR_S938, INSERM, UPMC Univ Paris 06, Paris, France
3. UF Génopathies - Pôle de Biochimie et Biologie Moléculaire, Centre de Biologie Pathologie Génétique-CHRU de Lille, Lille, France
4. Laboratoire de Biochimie et Biologie Moléculaire, Hôpital Bretonneau CHU-Tours, Tours, France
5. Laboratoire de Biochimie et de Biologie Moléculaire, CHRU de Tours – Hôpital Bretonneau, Tours, France
6. Service de Génétique et Biologie Moléculaires, Pôle Biologie – Pharmacie – Pathologie, CHU Paris Centre – Hôpital Cochin, Paris, France
7. Laboratoire Commun de Biologie et Génétique Moléculaires Pôle de Biologie Médicale et Pathologie – , GH Paris Est – Hôpital Saint-Antoine, Paris, France
8. Laboratoire Commun de Biologie et Génétique Moléculaire Pôle de Biologie Médicale et Pathologie – , GH Paris Est – Hôpital Saint-Antoine, Paris, France
9. Laboratoire Commun de Biologie et Génétique Moléculaire Pôle de Biologie Médicale et Pathologie –, GH Paris Est – Hôpital Saint-Antoine, Paris, France
10. LCBGM, Pôle de Biologie Médicale et Pathologie, AP HP, HUEP, Hôpital Saint Antoine et UMR_S938, INSERM, UPMC Univ Paris 06, Paris, France
11. Filière de Santé Maladies Rares du Foie de l'Adulte et de l'Enfant, GH Paris Est – Hôpital Saint-Antoine, Paris, France

Mots clefs : LPAC, cholélithiase intrahépatique, gènes des transporteurs des constituants de la bile, NGS, ABCB4

Résumé :

Contexte : Le réseau a rapporté en 2010, les variations de séquence du gène *ABCB4* impliqué dans la sécrétion des phospholipides de la bile dans les cholélithiases intra- hépatiques (LIH), en particulier le « Low- Phospholipid- Associated Cholelithiasis » ou LPAC syndrome. Le développement du séquençage nouvelle génération (NGS) a permis de révéler des altérations génétiques que la technique de Sanger occultait, comme les « Copy Number Variation » (CNV). **L'objectif de cette étude** a été de montrer l'apport du NGS dans les cholélithiases intrahépatiques (LIH) et les syndromes LPAC du réseau sur a) la nature des variants du gène *ABCB4* (SNV, INDEL), b) la mise en évidence des CNV du gène *ABCB4* c) la nature des variants « pathogènes » des gènes du panel, autres que le gène *ABCB4.* **Matériels et Méthodes :** Les patients **(**n=385**),** pour lesquels un NGS a été fait, ont été adressés dans les laboratoires respectifs pour une LIH (n=134) ou un syndrome LPAC (n= 251). Sur 251 LPAC et 134 LIH, 63,7% et 36,3% (NS), respectivement, sont des femmes. Près de 88% des patients ont moins de 40 ans dans les 2 diagnostics attribués (NS). Le panel commun au réseau est constitué de 10 gènes : *ABCB4, ABCB11, ATP8B1*, *ABCG5, ABCG8*, *NR1H4, ABCC2, SLC4A2, AQP8, GPBAR1.* A partir de l'ADN génomique, diverses stratégies de préparation des librairies et de ciblage (capture par des sondes d'hybridation pour 10 à 70 gènes impliqués dans ces pathologies), ont été développées. Les captures ont été effectuées sur un pool de 12 à 24 échantillons. Une amplification solide en pont des « pools » de capture sur une puce, a été réalisée avant le séquençage des clusters de la puce dans le séquenceur moyen débit, MiSeq. Des algorithmes développés en interne ou le logiciel Sophia DDM ont été utilisés pour analyser les données brutes FastQ. Une base anonyme 4D a été constituée comme support à la création de la base nationale. **Résultats :** En 2016, les données préliminaires du NGS par ciblage du panel de 10 gènes ont montré une meilleure résolution des altérations génétiques dans les cholélithiases et cholestases intrahépatiques héréditaires. Dans les LPAC, 53% versus 43,7 % des LIH présentaient au moins un variant significatif hétérozygote parmi les 10 gènes communs des panels du réseau. Un variant pathogène du gène *ABCB4* hétérozygote a été observé chez 28,2% des LPAC et 17,2% des LIH, ($p < 0,014$). Trois CNVs (grandes délétions d'exons du gène *ABCB4* hétérozygotes) ont été trouvés dans des syndromes LPAC. Un haplotype de variants polymorphes des gènes *ABCBG5_ ABCG8* (p.Arg50Cys_ p.Asp19His), a été trouvé comme facteur de risque élevé de faire une lithiase biliaire dans 30,8 % des LPAC et 19,9 % des LIH ($p < 0,018$). **En conclusion**, le NGS a permis de préciser la nature des altérations d'un panel de 10 gènes communs au réseau, dont le gène *ABCB4,* dans les syndromes LPAC et les cholélithiases intrahépatiques. La détection de CNV du gène *ABCB4* a montré la contribution majeure du NGS à leur diagnostic.

P489 - DPC : PRÉDOMINANCE DES MUTATIONS RASA1 DANS UNE COHORTE PEDIATRIQUE DE MALFORMATION ARTERIOVEINEUSES CEPHALO-RACHIDIENNES

Auteurs :

Guillaume SALIOU (1), Mélanie EYRIES (2), Marie-Christine WAILL (2), Florence COULET (2), Augustin OZANNE (3), Florent SOUBRIER (2)

1. Neuroradiologie, Hôpital de Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France
2. Génétique, Hôpital Pitié-Salpétrière, Paris, France
3. Centre pluridisciplinaire HHT, Hôpital de Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France

Mots clefs : fistules artérioveineuses , Maladie de Rendu-Osler, CM-AVM

Résumé :

Contexte
Les fistules artérioveineuses cérébrales ou de la moelle épinière (AVF) sont des malformations vasculaires rares retrouvées particulièrement chez les enfants. Elles peuvent être associées à deux types de maladies vasculaires héréditaires: la maladie de Rendu-Osler (HHT) avec comme principaux facteurs génétiques connus les gènes ENG et ACVRL1 ou le syndrome de malformation capillaire-malformation artério-veineuse(CM-AVM) due à des mutations dans le gène RASA1. Récemment une deuxième forme de CM-AVM a été décrite (CM-AVM2) et est due à des mutations du gène EphB4.
Objectifs
Etudier la prévalence des mutations des principaux gènes impliqués dans HHT et CM-AVM dans une cohorte d'enfants présentant au moins une fistule piale cérébrale ou médullaire et caractériser les relations génotype-phénotype.
Méthodes
Etude prospective de 43 enfants atteints de malformations artérioveineuses céphalo-rachidiennes. Analyse par séquençage Sanger des gènes ACVRL1, ENG, RASA1 et EphB4 et recherche de grands réarrangements par MLPA pour les gènes ACVRL1, ENG et RASA1.
Résultats
Une mutation a été identifiée chez 23 des 43 probands (53.4%) : 8 sur *ENG* (34.8%), 1 sur *ACVRL1* (4.3%) conduisant au diagnostic moléculaire d'HHT et 14 sur *RASA1* (60,8%) conduisant au diagnostic moléculaire de CM-AVM. Aucune anomalie n'a été identifiée sur le gène EphB4.
Au diagnostic, les porteurs de mutations HHT sont caractérisés par un taux élevé d'hémorragie (44% contre 7% chez les porteurs de mutations RASA1 et 15% chez les non porteurs) alors que les porteurs de mutations RASA1 présentent majoritairement des hémangiomes capillaires de la peau (86% contre 11% chez les porteurs de mutations HHT et 0% chez les non porteurs). La localisation des AVF est principalement cérébrale chez les porteurs de mutations RASA1 et chez les non porteurs alors qu'une répartition égale entre AVF cérébrale et spinale est observée chez les porteurs de mutations HHT. Aucun patient porteur de mutations HHT n'a d'insuffisance cardiaque alors que près de 50% des patients présentent ce symptôme chez les porteurs de mutations RASA1 et chez les non porteurs.
Conclusion :
Nos résultats mettent en évidence l'importance des tests génétiques chez les enfants présentant des fistules artérioveineuses cérébrales ou de la moelle épinière en raison de la fréquence élevée de mutations identifiées et de l'impact de ce diagnostic. Dans notre cohorte, nous observons une prédominance des mutations RASA1 dans les AVF cérébro-rachidiennes pédiatriques.

Assises2018_RASA1.docx

P490 : Identification d'une nouvelle mutation dans le gène DNAJB2 dans une grande famille Libanaise atteinte d'une forme axonale récessive de la maladie de Charcot-Marie-Tooth (AR-CMT2)

Auteurs :

Zahraa HAIDAR (1), Christel CASTRO (1), Nathalie ROECKEL-TREVISIOL (2), Alexandre ATKINSON (1), Jean-Pierre DESVIGNES (2), Eliane CHOUERY-KHOURY (3), Andre MEGARBANE (4), Rosette JABBOUR (5), Valérie DELAGUE (6)

1. GMGF, UMR_S 910, Aix Marseille Univ, Inserm, Marseille, France
2. GMGF, UMR_S 910, Aix Marseille Univ, Inserm, MARSEILLE, France
3. Unité de Génétique Médicale, Université Saint-Joseph, Beyrouth, Liban
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. GMGF, UMR_S 910, Aix Marseille Université, Inserm, marseille, France

Mots clefs : neuropathy, Charcot-Marie-Tooth, mutation, recessive, homozygotie, exome, NGS

Résumé :

Les Neuropathies Périphériques Héréditaires (IPN) constituent l'une des causes les plus fréquentes de maladies neurologiques héréditaires, et se distinguent par une dégénération progressive, longueur-dépendante, du système nerveux périphérique (SNP) et une forte hétérogénéité génétique et phénotypique . Parmi elles, les Neuropathies Sensitivo-motrices (HMSN), également connues sous le nom de maladie de Charcot-Marie-Tooth (CMT), constituent le groupe plus large. A l'heure actuelle, près de 120 gènes sont impliqués, parmi lesquels 80 sont responsables de CMT.
Dans cette étude, nous avons réalisé l'analyse génétique d'une grande famille consanguine d'origine libanaise, au sein de laquelle 3 patients présentent une forme axonale, lentement progressive, de CMT à transmission autosomique récessive. Les analyses génétiques réalisées dans cette famille, incluant un tour de génome par microsatellites et le séquençage à haut-débit des exomes (WES) d'un quatuor, ont permis d'incriminer le gène *DNAJB2* dans leur pathologie. En effet, nous avons identifié, chez tous les patients, une nouvelle mutation homozygote dans le gène *DNAJB2*: il s'agit de la mutation d'épissage c.65+1G>C. A l'heure actuelle, seules 4 mutations sont décrites dans ce gène, chez des patients atteints d'une forme motrice de CMT, DSMA5/dHMN5 (MIM 614881) ou de CMT axonal. Nous discutons les pièges de l'analyse génétique par homozygotie par descendance dans les grandes familles consanguines et l'apport du WES dans l'identification de cette nouvelle mutation dans *DNAJB2* dans cette famille. La mutation que nous rapportons est la cinquième décrite dans ce gène.

P491 : Apport du séquençage nouvelle génération par capture ciblée dans le diagnostic étiologique des cholestases chez l'enfant

Auteurs :

Anne SPRAUL (1), Bruno FRANCOU (2), Emmanuel GONZALES (3), Christophe OLIVEIRA (1), Alexis PROUST (2), Isabelle BOUCLY (2), Christophe HABIB (4), Emmanuel JACQUEMIN (3)

1. Biochimie, Hôpital Bicêtre, GHUPS, AP-HP, Le Kremlin Bicêtre, France
2. Génétique Moléculaire, Pharmacologie et Hormonologie, Hôpital Bicêtre, GHUPS, AP-HP, Le Kremlin Bicêtre, France
3. Service d'Hépatologie et de Transplantation Hépatique Pédiatriques, Centre de référence de l'atrésie des voies biliaires et cholestases génétiques, DHU Hépatinov, GHUPS, AP-HP, Faculté de médecine Paris-Sud , Le Kremlin Bicêtre, France
4. Plateforme d'expertise maladies rares Paris-Sud, Hôpital Bicêtre, GHUPS, AP-HP, Le Kremlin Bicêtre, France

Mots clefs : cholestase, pédiatrie, capture ciblée, NGS

Résumé :

Introduction : Les causes de cholestase chronique de l'enfant sont nombreuses. Dans 50% des cas, la cholestase est d'origine génétique. Le séquençage Sanger ne permet qu'une étude ciblée, gène par gène, des gènes les mieux identifiés dans les cholestases de l'enfant (syndrome d'Alagille, cholestases intrahépatiques fibrogènes familiales, déficit de synthèse des acides biliaires) et nécessite de longs délais (6 à 12 mois) pour confirmer un diagnostic.
Matériel et Méthodes : Nous rapportons l'expérience de 20 mois d'utilisation du séquençage nouvelle génération (NGS) par capture ciblée d'un panel de 70 gènes pour le diagnostic étiologique de cholestase de l'enfant. 251 enfants atteints de cholestase ont été étudiés, dont 65 patients sans diagnostic moléculaire malgré une étude préalable par séquençage Sanger de 1 à 3 gènes cibles. Les variants pathogènes identifiés ont été vérifiés par séquençage Sanger ou PCR quantitative (délétions).
Résultats : Cette analyse a permis d'établir un diagnostic moléculaire chez 22 des 65 patients sans étiologie identifiée par Sanger : parmi les 37 patients atteints de cholestase à GGT normales, 17 déficits ont été identifiés (46%) sur les gènes TJP2 (n=6), MYO5B (n=5), VPS33B (n=2), CYP27A1 (n=1), AKR1D1 (n=1), NR1H4 (n=1), ABCC2 (n=1) et parmi les 28 patients atteints de cholestase à GGT élevées, 5 déficits (18%) ont été identifiés sur les gènes DCDC2 (n=2), JAG1 (n=1), ABCB4 (n=1), ATP7B (n=1). Chez les 193 nouveaux patients, l'analyse simultanée des gènes du panel a permis de réduire les délais de rendu de résultat (3 mois) et d'établir un diagnostic moléculaire certain chez 39 patients (21%) : 22 patients avec cholestase à GGT normales (ABCB11 (n=11), ATP8B1 (n=1), MYO5B (n=2), CYP27A1 (n=1), MPV17 (n=1), ABCC2 (n=3)) et 17 patients avec cholestase à GGT élevées (ABCB4 (n=3), DCDC2 (n=1), JAG1 (n=10), NOTCH2 (n=3)). Des variants pathogènes ont également été identifiés sur les gènes ABCB4 et ABCB11 mais uniquement à l'état hétérozygote. Ce statut doit être confronté au phénotype clinique (cholestase néonatale transitoire ou forme de cholestase fibrogène d'apparition tardive). Enfin, des variants de signification inconnue ont été identifiés sur un ou plusieurs gènes : ces variants pourraient expliquer des phénotypes plus complexes.
Conclusion : Le séquençage d'un panel de gènes par NGS est un outil utile dans le diagnostic étiologique des cholestases de l'enfant. Il a permis de faire un diagnostic chez un tiers des patients sans diagnostic et initialement étudiés pour quelques gènes en Sanger. Utilisé en première intention, il permet d'établir un diagnostic étiologique chez 20 % des patients et de réduire le délai de rendu des résultats.

Assises de Génétique_ 2018_ADS.pdf

P492 - DPC : Apport des méthodes de séquençage à haut débit dans le diagnostic moléculaire des cardiomyopathies hypertrophiques: à propos d'un cas Tunisien

Auteurs :

Ahlem Achour (1), Molka Sebai (2), Imen Rjeb (2), Houweyda Jilani (2), Yasmina Elaribi (2), Syrine Hizem (2), Meriem Chaouch (2), Mayssa Idoudi (2), Wafa Fehri (3), Habib Haouala (3), Jamel Chelly (4), Lamia Ben Jemaa (2)

1. Maladies Congénitales et Héréditaires , Hôpital Mongi Slim , La Marsa, Tunis, Tunisie
2. Maladies Congénitales et Héréditaires , Hôpital Mongi Slim , La Marsa, La Marsa, Tunisie
3. Cardiologie, Hôpital Militaire de Tunis, Tunis, Tunisie
4. Laboratoire de diagnostic génétique, CHU de Strasbourg, Stasbourg, France

Mots clefs : cardiomyopathie hypertrophique, FHL1, MYBPC3

Résumé :

a cardiomyopathie hypertrophique(CMH) est la cardiomyopathie héréditaire la plus fréquente. Son incidence dans le monde est estimée à 0.2%.Elle représente la première cause génétique de mort subite d'origine cardiaque chez le sujet jeune. Environ 60 % des CMH sont des formes familiales avec une transmission autosomique dominante et une pénétrance incomplète. Les formes autosomiques récessives et liées à l'X ont été observées mais demeurent rares.
Plus de 25 gènes impliqués dans la CMH ont été rapportés (MYH7, MYBPC3, TNNI3, TNNT2…). Les gènes *MYH7* et *MYBPC3* sont incriminés dans la moitié des cas des formes familiales de CMH. Le gène *FHL1* localisé en Xq26 codant pour les protéines du sarcomère du muscle strié et du muscle cardiaque et impliqué dans les myopathies a été récemment rapporté dans la CMH isolée.
Le but de ce travail est d'analyser l'apport des méthodes de séquençage à haut débit dans le diagnostic des CMH à travers l'observation d'un patient Tunisien qui présente une cardiomyopathie hypertrophique confirmée par Whole Exome Sequencing.
Il s'agit d'un patient âgé de 30 ans issu d'un mariage non consanguin, au 7ème rang d'une fratrie de neuf. L'enquête génétique a révélé les antécédents de deux frères suivis en cardiologie pour CMH dépistée par échographie cardiaque et quatre sœurs en bonne santé (échographies cardiaques normales).
Devant l'atteinte exclusive des sujets de sexe masculin, la conduite à tenir initiale était de réaliser le séquençage du gène FHL1 qui n'a pas révélé de mutation pathogène. L'étude moléculaire par Exome sequencing a permis d'identifier une mutation au niveau l'intron 21 du gène *MYBPC3*. Cette mutation a déjà été décrite pour la première fois dans la littérature chez des patients japonais avec CMH. La confirmation par séquençage Sanger est en cours.
Cette observation nous a permis de confirmer l'intérêt de l'analyse par les méthodes de séquençage à haut débit dans le diagnostic des pathologies hétérogènes sur plan génétique à savoir la CMH. En effet l'identification des mutations permet d'apporter un diagnostic rapide chez les patients et de donner un meilleur conseil génétique aux familles.

La cardiomyopathie hypertrophique COPIE FINALE A SOUMETTRE.docx

P493 : Des mutations de FAM46A sont responsables d'une forme sévère d'Ostéogénèse Imparfaite autosomique récessive

Auteurs :

Séverine Bacrot (1), Mathilde Doyard (2), Céline Huber (2), Alice Goldenberg (3), Maja Di Rocco (4), Mona S. Aglan (5), Perrine Brunelle (1), Caroline Michot (1), Ghada A. Otaify (5), Coralie Haudry (1), Mireille Castanet (6), Julien Leroux (6), Jean-Paul Bonnefont (1), Arnold Munnich (1), Genevieve Baujat (1), Sophie Monnot (1), Ruiz-Perez Victor L. (7), Valérie Cormier Daire (1)

1. Service de Génétique Médicale et Institut Imagine, Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France
2. Institut Imagine, Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France
3. Service de Génétique Médicale, CHU de Rouen, Rouen, France
4. Unité maladies rares, Giannina Gaslini Institute, Genova, Italie
5. Service de Génétique Médicale, National Research Centre, Le Caire, Égypte
6. Service de Pédiatrie, CHU de Rouen, Rouen, France
7. Instituto de Genética Médica y Molecular (INGEMM), CIBER de enfermedades Raras,, Hospital Universitario La Paz-IdiPaz, Universidad Autónoma de Madrid, Madrid, Espagne

Mots clefs : Ostéogenèse Imparfaite, FAM46A, Syndrome de Stüve-Wiedemann

Résumé :

Le Syndrome de Stüve-Wiedemann (SWS) est une dysplasie squelettique sévère autosomique récessive (AR) caractérisée par une incurvation congénitale des os longs. Une détresse respiratoire et des épisodes d'hyperthermie sont fréquemment responsables d'un décès précoce. L'évolution est marquée par une scoliose progressive et des fractures spontanées. Nous avons identifié des mutations de *LIFR* dans la majorité des cas de SWS. L'absence de mutation *LIFR* chez 5 patients SWS nous a conduits à réaliser une analyse d'exome et à identifier une mutation homozygote de *FAM46A* chez un patient (p.Ser205Tyrfs*13) issu de parents apparentés italiens. Il existe un chevauchement entre le SWS et l'Ostéogénèse imparfaite (OI) et le suivi de ce cas a conduit finalement à un diagnostic d'OI devant les sclérotiques bleues et des tassements vertébraux. Nous avons alors séquencé *FAM46A* chez 25 patients OI sans mutation connue. Un variant délétère homozygote de *FAM46A* a été identifié chez un frère et une sœur atteints d'une forme typique d'OI (p.His127Arg). Un autre variant homozygote classé délétère (p.Asp231Gly) a été détecté chez un patient atteint d'OI issu de parents consanguins égyptiens, dans une série de patients OI explorée à Madrid.
FAM46A appartient à la superfamille des protéines nucléotidyltransférases fold. Sa fonction exacte est inconnue mais elle semble avoir un rôle primordial dans le développement osseux. Nous avons détecté l'expression spécifique de *FAM46A* dans des ostéoblastes humains par RT-PCR. Par ailleurs, une mutation non-sens homozygote de *fam46a* a été récemment identifiée chez un modèle murin ENU-dérivé présentant des anomalies squelettiques sévères, notamment une petite taille, des déformations des membres, des côtes, du pelvis et du crâne, et une diminution d'épaisseur de la corticale des os longs.
En conclusion, nous rapportons chez trois patients présentant une forme sévère d'OI avec incurvation congénitale des membres inférieurs, des mutations homozygotes de *FAM46A* et suggérons l'analyse de ce gène dans les formes inexpliquées d'OI.

résumé-assises-vcd.docx

P494 : Deux nouveaux cas de myopathie mitochondriale avec intolérance à l'effort, hyper lactacidémie et cardiomyopathie dus à des mutations récessives de SLC25A4

Auteurs :

Claude JARDEL (1), Anouk TOSSERAMS (2), Costantinos PAPADOPOULOS (3), Sandrine FILAUT (1), Isabelle LEMIERE (1), Pascale DE LONLAY (4), Karim WAHBI (3), Norma B ROMERO (5), Nicol VOERMANS (2), Jean Yves HOGREL (6), Pascal LAFORET (3)

1. UF Cardio et Myogénétique-Biochimie Métabolique, Hôpital Pitié Salpêtrière, Paris, France
2. centre for cognitive neurosciences, department of neurology, Radboud University Medical centre, Nijmegen, Pays-Bas
3. centre de référence maladie neuromusculaire Paris Est, GHU Pitié Salpêtrière, Paris, France
4. Centre des maladies héréditaires du métabolisme, Hôpital Necker Enfants Malades , Paris, France
5. Unité de morphologie musculaire,institut de myologie, GHU Pitié Salpêtrière, Paris, France
6. Institut de Myologie, GHU Pitié Salpêtrière, Paris, France

Mots clefs : SLC25A4, ANT1, mitochondrial myopathy, exercise intolerance, cardiomyopathy

Résumé :

Le transporteur mitochondrial de l'adénosine (ANT1) est une abondante protéine de la membrane interne de la mitochondrie, exprimée de façon prépondérante dans le muscle et le cœur. Il joue un rôle essentiel dans le fonctionnement de la chaîne des OXPHOS en participant à l'échange ADP/ATP entre les compartiments mitochondriaux. Des mutations dominantes du gène *SLC25A4* codant pour ANT1 ont été décrites dans les ophtalmoplégies externes progressives. Plus rarement, des mutations récessives ont été rapportées chez des patients atteints de cardiomyopathie hypertrophique, intolérance à l'effort et acidose lactique. Nous présentons ici 2 nouveaux cas de patients non apparentés avec mutations récessives de *SLC25A4*.
P1 est une femme de 26 ans, d'origine tunisienne, née à terme de parents consanguins sans histoire familiale d'atteinte neuromusculaire. A 11 ans, elle développe une dyspnée d'effort et une intolérance à l'exercice associée à une fatigabilité. A 20 ans apparait un ptosis gauche progressif aggravé par la fatigue. P2 est une femme de 52 ans, d'origine française, née à terme de parents non consanguins. Dès la jeune enfance, les activités physiques sont difficiles avec intolérance à l'effort, dyspnée, fatigabilité musculaire ; à 11 ans apparait une faiblesse musculaire permanente avec difficultés à la marche et à la montée d'escaliers ; il existe également une dysphagie aux solides. L'examen neurologique à 50 ans montre une faiblesse axiale et proximale des 4 membres.
Aucune des patientes ne rapporte d'épisodes de rhabdomyolyse ; elles ont toutes les deux un EMG et des CK normaux et une hyperlactatémie de base (3,1 mmol/L pour P1 et 6.7mmol/L pour P2). Les 2 patientes ont une hypertrophie ventriculaire gauche mais un rythme cardiaque normal. Leurs biopsies musculaires présentent des agrégats sous sarcolemnaux et une surcharge en lipides sans déficit en cytochrome c oxydase. L'analyse de la chaîne des OXPHOS montre des activités augmentées des différents complexes et de la citrate synthase, traduisant la prolifération mitochondriale. Les études de génétique moléculaire de l'ADNmt musculaire montre l'absence de délétion unique de grande taille et de mutation pathogène mais mettent en évidence par PCR longue des délétions multiples évoquant un défaut de maintenance de l'ADNmt. L'étude d'un panel Mitocapture de 170 gènes nucléaires met en évidence des mutations du gène *SLC25A4* chez les 2 patientes : c.423G > C (p.Leu141Phe) à l'état homozygote pour P1 et 2 mutations hétérozygotes c.290del (p.130Leufs*41) et c.386C > T (p.Ala123Asp) pour P2.
Ces données comparées à celles de la littérature permettent de conforter un phénotype clinique homogène (intolérance à l'effort dès l'enfance, cardiomyopathie hypertrophique et hyperlactatémie) chez les patients porteurs de mutations récessives de *SLC25A4*. Ce phénotype est très différent de l'ophtalmoplégie externe progressive qui est la règle chez les patients porteurs d'une mutation dominante du même gène.

Abstract-assises génétique_Jardel.docx

P495 : Efficacité diagnostique du séquençage haut débit d'un panel large de gènes chez des enfants atteints de myopathies et dystrophies musculaires

Auteurs :

Corinne THEZE (1), Delphine LACOURT (2), Kevin YAUY (1), Raul JUNTAS-MORALES (3), Ulrike WALTHER-LOUVIER (4), Claude CANCES (5), Caroline ESPIL (6), Emmanuelle URO-COSTE (7), Marie-Laure MARTIN NEGRIER (8), Valérie RIGAU (9), John RENDU (10), Julien FAURE (10), Valérie BIANCALANA (11), Céline BOUCHET-SERAPHIN (12), Nathalie SETA (12), Lucile PINSON (13), Eric BIETH (14), Cyril GOIZET (15), François RIVIER (4), Michel KOENIG (16), Mireille COSSEE (16)

1. Laboratoire de Génétique moléculaire, CHU Montpellier, Montpellier, France
2. Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU, Montpellier, France
3. . Département de Neurologie, CHU, Montpellier, France
4. Département de Neurologie Pédiatrique, CHU, Montpellier, France
5. Département de Neurologie Pédiatrique, CHU, Toulouse, France
6. Département de Neurologie Pédiatrique, CHU, Bordeaux, France
7. Département d'anatomie et cytologie pathologiques, CHU, Toulouse, France
8. Service de Pathologie, CHU, Bordeaux, France
9. Département de Biopathologie cellulaire et tissulaire des tumeurs, CHU, Montpellier, France
10. Laboratoire de Biochimie génétique et moléculaire, CHU de Grenoble, Grenoble, France
11. . Laboratoire de diagnostic génétique, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
12. Départements de génétique et biochimie, , AP-HP, Hôpital Bichat, Paris, France
13. Département de Génétique Médicale, Maladies Rares et Médecine personnalisée, Service de Génétique Clinique, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
14. Département de Génétique, CHU, Toulouse, France
15. Département de Génétique, CHU, Bordeaux, France
16. Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU, Université Montpellier, Montpellier, France

Mots clefs : NGS, myopathies et dystrophies musculaires, Titine, Nébuline, conseil génétique, digénisme

Résumé :

En collaboration avec le Centre de référence des maladies neuromusculaires du Grand Sud-Ouest, nous avons développé une stratégie diagnostique de séquençage haut débit (NGS) basée sur un panel large de gènes impliqués dans les myopathies et dystrophies musculaires (M-DM). Ce panel large inclut également des gènes impliqués dans d'autres phénotypes neuromusculaires dans le but de détecter de potentiels cas atypiques. L'analyse d'une cohorte de 55 enfants (principalement des cas sporadiques) sans diagnostic établi a permis d'identifier le gène responsable de la pathologie dans 55% des cas. Les gènes les plus fréquemment impliqués sont Ryanodine receptor I (*RYR1*), Nebulin (*NEB*) et Titin (*TTN*). Du fait de leur très grande taille, seuls quelques laboratoires en Europe séquençaient ces trois gènes avant la mise en place du NGS et la recherche de mutations était principalement restreinte aux régions « hot spot » de mutations. Par ailleurs, l'analyse moléculaire du gène *TTN* était seulement demandée pour des tableaux cliniques spécifiques alors que le spectre clinique est très large. Cette stratégie NGS basée sur un panel large de gènes a permis d'identifier l'étiologie génétique dans des tableaux cliniques et histologiques atypiques ou incomplets. Elle présente un intérêt majeur chez les patients avec hypotonie congénitale (n=25), puisque la biopsie musculaire n'a permis d'objectiver des anomalies spécifiques que dans 14% des cas. D'autre part, la ségrégation familiale est d'un intérêt majeur, particulièrement dans les situations où des variants candidats sont détectés dans plusieurs gènes.
L'identification de l'étiologie génétique permet la mise en place d'une prise en charge et d'un conseil génétique adaptés. Toutefois, le conseil génétique peut être complexe en cas d'identification de variants dans deux gènes distincts chez le cas index. Nous rapportons un cas de diagnostic prénatal réalisé simultanément pour les deux gènes *FKRP* et *RYR1* (gènes proches sur le Chr 19) dans une famille consanguine. La mutation homozygote du gène *FKRP* était clairement responsable de la pathologie chez le cas index mais une participation du gène *RYR1* dans le phénotype ne pouvait pas être exclue. L'utilisation systématique du NGS pour le diagnostic devrait identifier de plus en plus de cas de possible digénisme avec les difficultés qui en découlent pour le conseil génétique.

P496 : Profil cytogénétique et devenir des syndromes myélodysplasiques en pays émergent

Auteurs :

Souad Taoussi (1), Yamina Bouchakour Moussa (2), Mohand Tayeb Abad (1), Mohamed Bradai (2)

1. Hématologie, EHS ELCC CAC, Université Blida I Soumaa , Blida, Algérie
2. Hématologie, CAC Hopital Frantz Fanon Blida, Blida, Algérie

Mots clefs : MDS, Caryotype, FISH, IPSS,IPSS-R,Survie

Résumé :

Introduction : Les syndromes myélodysplasiques (MDS) sont des affections hétérogènes clonales impliquant des cellules souches hématopoïétiques avec risque élevé de transformation leucémique.Les études cytogénétiques montrent des groupes pronostiques indicatifs des traitements. Nous avons mené la première étude par caryotype et hybridation fluorescente in situ (FISH) pour valuer les résultats des MDS par les classifications IPSS et IPSS-R dans un pays émergent.
Malades et méthodes: Entre 1/2012 et 12/2016, 101 patients (pts) MDS ont été diagnostiqués consécutivement. Les anomalies génétiques sont révélées par le caryotype en bande R et par FISH métaphasique et interphasique par six sondes (5q-,7q,20q,del(17p13),MLL,Inv(3) t(3; 3). Les pts ont été stratifiés selon les scores IPSS et IPSS-R; les probabilités de survie ont été estimées selon la méthode de Kaplan-Meier.
Résultats: Parmi ces 101 pts, 58 étaient des hommes , sex ratio = 1, 35;âge moyen=61,6 ans (18-94). Hémoglobine moyenne=80 g/L (29-150);le taux absolu de neutrophiles=3 G/L (0,060-13,5) et le taux de plaquettes =144 G/L (5-659). Le taux de blastes médullaires=4% (0-18). Les cas ont été classés par cytomorphologie FAB comme AR(N=45), AREB(n=34),RARS (n=16), autre (n=6). La classification par l'OMS 2008 comprenait la RCUD (n=31 dont RA: 18, RT:10, RN: 3), RCMD(n=16), RAEB-1 (n=22), RAEB-2 (n=13), RARS (n=15), Isolé 5q-(n=4). Parmi les 101 pts, on a découvert des anomalies cytogénétiques par caryotype en bande R (n=84) et FISH (n=101) dans 41 cas (41%):anomalie unique (n=19), double anomalie (n=5) et complexe (n=17). Les principales anomalies cytogénétiques observées ont été isolées, la del 5q (n=4), la délétion isolée de 7q (n=2), la délétion 20q isolée (n=6), la trisomie 8 isolée (n=2), la délétion 17p13 (n=6) - Y (n=1), les aberrations (ab) complexes ≥ 3 (n=6), les ab complexes ≥ 5 (n=6), les ab complexes ≥7 (n=5), autres (n =3). L'IPSS chez 84 pats: 27% (faible risque), 44% (intermédiaire 1), 24% (intermédiaire 2), 5% (risque élevé). L'IPSS-R : 84 pats (18% très faible risque, 30% faible risque, 22,5% intermédiaire, 15,5% Risque élevé, 14% très élevé). Transformation en LAM chez 33% des pats dans un délai médian de 12 mois. Selon l'IPSS, la médiane de survie globale (OS) n'est pas atteinte pour le groupe à faible risque ; elle est de 41 mois (m) pour le risque Intermédiaire 1, de 11 m pour le risque Intermédiaire 2 et 4 m pour le risque élevé. Selon l'IPSS-R, la médiane de survie globale n'est pas atteinte pour un risque très faible, 43 m pour un risque faible, 24 m pour le risque intermédiaire, 18 m pour le risque élevé et 4 m pour un risque très élevé.
Conclusion: Nos résultats sont en accord avec ceux précédemment publiés concernant les caractéristiques démographiques, la distribution d'anomalies cytogénétiques récurrentes et la prédiction de la survie. L'application des nouveaux outils pour classer les MDS revêt une importance majeure afin de mieux cibler les traitements.

P497 : Des mutations bi-alléliques de MRPS34 conduisent à une instabilité de la petite sous-unité du mitoribosome associé à un syndrome de Leigh.

Auteurs :

Nicole J. Lake (1), Bryn D. Webb (2), David A. Stroud (3), Tara R. Richman (4), Benedetta Ruzzenente (5), Alison G. Compton (1), Hayley S. Mountford (1), Juliette Pulman (5), Coralie Zangarelli (5), Marlene Rio (6), Nathalie Bodaert (7), Zahra Assouline (6), Mingma D. Sherpa (8), Eric E. Schadt (2), Sander M. Houten (2), James Byrnes (9), Elizabeth M. McCormick (9), Zarazuela Zolkipli-Cunningham (9), Katrina Haude (10), Zhancheng Zhang (10), Kyle Retterer (10), Renkui Bai (10), Sarah E. Calvo (11), Vamsi K. Mootha (11), John Christodoulou (1), Agnes Rötig (5), Aleksandra Filipovska (12), Ingrid Cristian (13), Marni J. Falk (9), Metodi D. Metodiev (5), David R. Thorburn (1)

1. Department of Paediatrics, Murdoch Children's Research Institute, Royal Children's Hospital, Melbourne, Australie
2. Department of Genetics and Genomic Sciences, Icahn School of Medicine at Mount Sinai, New York, Etats-Unis
3. Department of Biochemistry and Molecular Biology, Monash Biomedicine Discovery Institute, Melbourne, Australie
4. Harry Perkins Institute of Medical Research and Centre for Medical Research, University of Western Australia, Nedlands, Australie
5. INSERM U1163, Institut Imagine, Paris, France
6. Departments of Pediatric, Neurology and Genetics, Hôpital Necker-Enfants-Malades, Paris, France
7. Pediatric Radiology Department, Hôpital Necker-Enfants-Malades, Paris, France
8. Department of Genetics and Genomic Sciences, Icahn School of Medicine at Mount Sinai, New York, Etats-Unis
9. Division of Human Genetics, Department of Pediatrics, The Children's Hospital of Philadelphia, Philadelphia, Etats-Unis
10. , GeneDx, Gaithersburg, Etats-Unis
11. Department of Molecular Biology, Howard Hughes Medical Institute, Boston, Etats-Unis
12. , Harry Perkins Institute of Medical Research and Centre for Medical Research, University of Western Australia, Nedlands, Australie
13. Division of Genetics, Nemours Children's Hospital, Orlando, Etats-Unis

Mots clefs : mitochondrie, genetique, mitoribosome, syndrome de Leigh, exome

Résumé :

The synthesis of all 13 mitochondrial DNA (mtDNA)-encoded protein subunits of the human oxidative phosphorylation (OXPHOS) system is carried out by mitochondrial ribosomes (mitoribosomes). Defects in the stability of mitoribosomal proteins or mitoribosome assembly impair mitochondrial protein translation, causing combined OXPHOS enzyme deficiency and clinical disease. Here we report four autosomal-recessive pathogenic mutations in the gene encoding the small mitoribosomal subunit protein, MRPS34, in six subjects from four unrelated families with Leigh syndrome and combined OXPHOS defects. Whole-exome sequencing was used to independently identify all variants. Two splice-site mutations were identified, including homozygous c.321þ1G>T in a subject of Italian ancestry and homozygous c.322[1]10G>A in affected sibling pairs from two unrelated families of Puerto Rican descent. In addition, compound heterozygous MRPS34 mutations were identified in a proband of French ancestry; a missense (c.37G>A [p.Glu13Lys]) and a nonsense (c.94C>T [p.Gln32*]) variant. We demonstrated that these mutations reduce MRPS34 protein levels and the synthesis of OXPHOS subunits encoded by mtDNA. Examination of the mitoribosome profile and quantitative proteomics showed that the mitochondrial translation defect was caused by destabilization of the small mitoribosomal subunit and impaired monosome assembly. Lentiviral-mediated expression of wild-type MRPS34 rescued the defect in mitochondrial translation observed in skin fibroblasts from affected subjects, confirming the pathogenicity of MRPS34 mutations. Our data establish that MRPS34 is required for normal function of the mitoribosome in humans and furthermore demonstrate the power of quantitative proteomic analysis to identify signatures of defects in specific cellular pathways in fibroblasts from subjects with inherited disease.

MRPS34 assise.docx

P498 : Maladie de Charcot-Marie-Tooth liée à l'X : identification d'une mutation intronique du gène GJB1

Auteurs :

Maude GRELET (1), NATHALIE MARTINI (2), BRIGITTE LE GOANVIC (3), SABRINA SACCONI (4), CAROLINE LACOSTE (3), NICOLAS LEVY (2), Nathalie BONELLO-PALOT (3)

1. DEPARTEMENT DE GENETIQUE MEDICALE, CHU TIMONE ENFANTS APHM, Marseille, France
2. DEPARTEMENT DE GENETIQUE MEDICALE, CHU TIMONE ENFANTS APHM, MARSEILLE, France
3. DEPARTEMENT DE BIOLOGIE MOLECULAIRE , CHU TIMONE ENFANTS APHM, MARSEILLE, France
4. SYSTEME NERVEUX PERIPHERIQUE, MUSCLE, SLA, HOPITAL PASTEUR 2, NICE, France

Mots clefs : GJB1, intronique, Charcot-Marie-Tooth

Résumé :

La maladie de Charcot-Marie-Tooth est une neuropathie périphérique sensitivo-motrice héréditaire qui peut être transmise selon différents modes. La forme liée à l'X est dûe dans la majorité des cas à des mutations dans le gène *GJB1* codant pour la connexine 32. Cette neuropathie est caractérisée par une atteinte distale des nerfs sensitifs et moteurs au niveau des membres inférieurs et également des membres supérieurs, notamment des mains. L'évolution est généralement lente. Plus de 400 mutations ont été décrites dans les régions codantes du gène GJB1 alors que seulement une dizaine dans des régions introniques. Nous rapportons une famille atteinte d'une CMT1 liée à l'X porteuse d'une mutation (c.1-372C > T) située en 5'UTR du gène GJB1. Cette mutation a été identifiée grâce au séquençage de la région promotrice de ce gène en plus de celle de l'exon 2. Elle était présente chez notre cas index et son oncle tous deux atteints de la maladie. Nous avons réalisé des études transcriptionnelles afin d'argumenter le caractère pathogène de cette mutation. Nous avons réalisé une RT-PCR à partir de l'ARN extrait des leucocytes du sang périphérique. Ces analyses ont permis de montrer l'absence du transcrit GJB1 chez le cas index. Ce qui constitue un argument fort de pathogénicité pour cette mutation et nous a permis de rendre un diagnostic moléculaire pour cette famille. Actuellement, le diagnostic des neuropathies périphériques héréditaires est réalisé par séquençage haut débit. Ce cas illustre l'importance de séquencer les régions non codantes du gène GJB1 et donc de les intégrer dans les panels diagnostiques, particulièrement dans les formes liée à l'X.

P499 : Spectre clinique associé à des mutations du gène PNPT1

Auteurs :

Christelle Tamby (1), Zahra Assouline (2), Lucas Bianchi (1), Laurence Hubert (1), Claude Besmond (1), Shawn E. McCandless (3), Marco Henneke (4), Gärtner Jutta (4), Valérie Serre (5), Manuel Schiff (6), Marlène Rio (2), Arnold Munnich (2), Metodi Metodiev (1), Agnès Rötig (1)

1. INSERM UMR1163, Institut Imagine, Paris, France
2. Département de Génétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
3. Center for Human Genetics, University Hospitals Case Medical Center, Cleveland, Etats-Unis
4. Department of Pediatrics and Adolescent Medicine, University Medical Center, Goettingen, Allemagne
5. CNRS UMR7592, Université Paris Diderot et Institut Jacques Monod, Paris, France
6. CRMR Maladies Héréditaires du Métabolisme, Hôpital Robert Debré, Pairs, France

Mots clefs : mitochondrie, PNPT1, encephalopathie, syndrome de Leigh

Résumé :

Mitochondrial disorders are characterized by a large clinical and genetic heterogeneity and the same mutant gene can lead to different phenotypes. We report here four patients with new PNPT1 mutations and various clinical presentations.
A boy presenting with cataract, deafness, RP and psychomotor retardation. Abnormal putamen and basal ganglia and lactate peak were detected in brain. Respiratory chain (RC) defect was found in muscle and fibroblasts. Exome sequencing detected a homozygous c.407G>A mutation (p.Arg136His).
A 18-year-old male presenting poor growth, sensorineural hearing loss, diabetes mellitus and lactic acidosis. Fibroblasts display RC enzyme defect but normal assembly. He carries two PNPT1 variations: c.1495G>C (p.Val509Ile) and c.1592C>G (p.Thr531Arg). Decreased amount of PNPase was detected in fibroblasts.
A girl presenting hypotonia, dystonia, moderate deafness and optic atrophy and delayed myelinisation. Lactatemia and lactatorachia were normal. RC activities and assembly were normal in muscle and fibroblasts. Two PNPT1 mutations were identified (c.1495G>C, p.Gly499Arg and c.1519G>T, p.Ala507Ser) resulting in a decreased amount of PNPase.
A girl with failure to thrive, microcephaly, severe psychomotor impairment with trunk hypotonia, spastic tetraperesis and dystonic movements has bilateral cystic lesions in temporal regions, white matter abnormalities but no obvious abnormalities of brain stem, basal ganglia or thalami. Normal metabolic work-up was found in blood, urine and CSF. A homozygous c.1399C>T (p.Pro467Ser) PNPT1 mutation results in a decreased amount of PNPase in fibroblasts. Functional validation of these mutations is currently in progress.
A boy with trunk hypotonia, failure to thrive, dystonia and deafness presenting a mild myelinisation delay but no obvious abnormalities in basal ganglia. Fibroblasts display an assembly defect of complex IV. He carries two heterozygous variations c.208T>C (p.Ser70Pro) and c.2137G>T (p.Asp713Tyr).
This study expands the phenotypic spectrum of PNPT1 mutations. Moreover, it shows that clinical presentation associated with PNPT1 mutations are not always suggestive of mitochondrial disease as two of our patients do not show hyperlactatemia, hyperlactatorachia or RC defect.

Abstract PNPT1 Tamby.docx

P500 : Diagnostic de déficit en transporteur de la thiamine de type 2 par séquençage d'exome dans une famille atteinte du syndrome de Leigh

Auteurs :

Marie Faoucher (1), Audrey Labalme (1), Nicolas Chatron (1, 2), Christophe Rousselle (3), Pierre-Marie Gonnaud (4), Perrine Devic (4), Patrick Edery (1, 2), Damien Sanlaville (1, 2), Gaëtan Lesca (1, 2)

1. Service de génétique médicale, Groupement Hospitalier Est, Hospices Civils de Lyon, Bron, France
2. , Université Claude Bernard Lyon1, Lyon, France
3. Neurochirurgie pédiatrique, Hôpital Femme-Mère-Enfant, Hospices Civils de Lyon, Bron, France
4. Service de neurologie, Centre Hospitalier Lyon Sud, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

Mots clefs : transporteur de la thiamine, biotine, syndrome de Leigh, séquençage d'exome, SLC19A3

Résumé :

Objectif : Rapporter les caractéristiques cliniques et génétiques d'une fratrie atteinte de déficit en transporteur de la thiamine de type 2 se présentant comme un syndrome de Leigh.
Méthode : Analyse par séquençage d'exome de 2 patients atteints d'une même famille et étude de ségrégation familiale par séquençage Sanger.
Résultats : Nous rapportons 3 membres d'une fratrie d'une famille consanguine d'origine algérienne. Le frère ainé a présenté, à l'âge de 3 ans, deux épisodes aigus de nécrose bilatérale des noyaux gris centraux secondairement responsable d'un handicap psychomoteur et d'une épilepsie pharmaco-résistante conduisant au décès à l'âge de 15 ans. Les sœurs cadettes, jumelles monozygotes, ont présenté des épisodes de décompensations neurologiques répétés et survenant souvent de manière simultanées, déclenchés par la fièvre ou les écarts alimentaires (alimentation sucrée), avec récupération quasi-complète entre les épisodes. Ces décompensations étaient caractérisées par l'association variable d'une ataxie cérébelleuse, d'une paralysie faciale, d'un coma et de dystonies ou de crises épileptiques. La sévérité des épisodes a diminué avec l'âge, permettant une insertion socio-professionnelle, malgré des séquelles neurologiques, notamment dystoniques. Les signes cliniques et radiologiques étaient compatibles avec un syndrome de Leigh bien que les bilans métaboliques et la biopsie musculaire n'aient pas confirmé ce diagnostic (cytopathie mitochondriale, déficit en PDH). Néanmoins, un traitement par régime cétogène et une supplémentation en vitamine B1 et B6 a été instauré à l'âge de 2 ans et a permis une récupération rapide lors des épisodes aigus. Chez les sœurs, l'IRM cérébrale montraient, entre les crises, des lésions bilatérales des noyaux gris centraux. Au cours des accès aigues, l'IRM montrait une majoration de ces lésions associée à des hypersignaux étendus prédominant dans le cortex temporo-occipital, régressant de façon concomitante aux signes cliniques. Le séquençage d'exome a permis l'identification du variant c.1264A>G/p.Thr422Ala à l'état homozygote dans le gène *SLC19A3*, confirmant le diagnostic de déficit du transporteur de la thiamine de type 2 répondant à la biotine. Le diagnostic moléculaire a permis une adaptation thérapeutique avec une majoration des doses de vitamine B1 et l'introduction de fortes doses de biotine.
Conclusion : Ce variant a déjà été rapporté dans des familles originaires d'Arabie Saoudite et sa récurrence est probablement liée à un effet fondateur. Dans cette famille, le séquençage d'exome a permis de porter un diagnostic d'encéphalopathie liée au déficit du transporteur de la thiamine de type 2 chez des patients présentant un phénotype de syndrome de Leigh non confirmé sur le plan biologique. Un diagnostic précoce de cette pathologie permettrait l'introduction rapide de la supplémentation vitaminique, ce qui réduirait fortement les accès aigues et préviendrait des complications neurologiques définitives.

Abstract assise SCL19A3..docx

P501 : Identification de la mutation arabe c.2254C>T du gène DDR2 chez une patiente Marocaine atteinte d'une dysplasie spondyloépimétaphysaire-anomalies de calcification.

Auteurs :

Hanane MERHNI (1), WAFAA JDIOUI (2), MARIA MANSOURI (3), ABDELAZIZ CHEMLAL (4), Abdelaziz Sefiani (5), Hanane MERHNI (1)

1. Centre de Génomique Humaine, Faculté de Médecine et de Pharmacie- Université Mohamed V. Rabat, Rabat, Maroc
2. Département de génétique médicale de Rabat, Institut National d'Hygiène, Rabat, Maroc
3. Département de Génétique Médicale de Marrakech, Centre Hospitalier Universitaire Mohammed VI, Marrakech, Maroc
4. Cabinet de Pédiatrie générale, Secteur privé, TANGER, Maroc
5. Centre de Génomique Humaine, Université Mohammed V, Rabat, Maroc

Mots clefs : Mots clefs : Dysplasie spondyloépimétaphysaire SEMD, Gène DDR2, Séquençage ciblé, Mutation récurrente arabe.

Résumé :

La dysplasie spondyloépimétaphysaire avec anomalies de calcification (SEMD-anomalies de calcification) est une maladie osseuse constitutionnelle très rare, à transmission autosomique récessive. Sa prévalence est mal connue avec seulement 27 cas décrits dans la littérature. Cette maladie est caractérisée sur le plan clinique par un nanisme, des membres courts, des mains courtes et une brachydactylie avec une dysmorphie faciale particulière et une hypotonie musculaire. Le diagnostic est radiologique avec des signes de dysplasie spondyloépimétaphysaire: irrégularités métaphyso-épiphysaires, anomalies vertébrales, côtes courtes, thorax étroit et phalanges distales triangulaires associés à des calcifications osseuses et des os longs courts et larges. SEMD-anomalies de calcification est dûe à des mutations du gène *DDR2* localisé en 1q23.3, avec 7 mutations décrites (5 faux-sens, une petite délétion et une mutation d'épissage) et un hotspot au niveau de l'exon 17.
Nous rapportons l'observation d'un nourrisson marocain de sexe féminin, âgé de 2ans et demi, consanguin de premier degré, unique de sa famille, présentant un retard staturo-pondéral à -4DS, une dysmorphie faciale, une hypotonie musculaire et des membres courts. Le tableau radiologique est évocateur d'une SEMD.
Un séquençage ciblé de la mutation récurrente arabe c.2254 C > T (R752C) du gène *DDR2* a été réalisé. Cette mutation a été objectivée à l'état homozygote chez notre malade et à l'état hétérozygote chez les parents.
Ce test moléculaire nous a permis la confirmation du diagnostic de SEMD-anomalies de calcifications chez notre malade, de proposer une prise en charge adaptée et de prodiguer un conseil génétique à la famille.

Abstract SEMD.docx

P502 : La lipomatose de Launois-Bensaude due aux mutations de MFN2 : spectre clinique et impact sur le tissu adipeux

Auteurs :

Emilie Capel (1), Camille Vatier (1, 2), Pascale Cervera (3), Martine Auclair (1), Martine Laville (4), Tanya Stojkovic (5), Florence Tenenbaum (6), Brigitte Delemer (7), Pierre Gourdy (8), Emmanuel Disse (4), Marie-Christine Verpont (9), Anne-Ségolène Cottereau (10), Anne Miquel (11), Amélie Bonnefond (12), Philippe Froguel (12), Olivier Lascols (1, 13), Corinne Vigouroux (1, 14), Isabelle Jéru (1, 13)

1. UMR_S938, INSERM, Paris, France
2. Service d'endocrinologie et maladies métaboliques, Hôpital Saint-Antoine, AP-HP, Paris, France
3. Service d'anatomie et cytologie pathologiques, Hôpital Saint-Antoine, AP-HP, Paris, France
4. Service d'Endocrinologie , Diabétologie, Nutrition, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
5. Département de Neurophysiologie Clinique, Hôpital Pitié Salpêtrière, AP-HP, Paris, France
6. Service de médecine nucléaire, Hôpital Cochin, AP-HP, Paris, France
7. Service endocrinologie, Hôpital Robert Debré, CHU Reims, Reims, France
8. Service d'endocrinologie, Hôpital Rangueil, CHU Toulouse, Toulouse, France
9. UMR_S 1155, INSERM, Paris, France
10. Service de médecine nucléaire, Hôpital Saint-Antoine, AP-HP, Paris, France
11. Service de radiologie, Hôpital Saint-Antoine, AP-HP, Paris, France
12. UMR CNRS 8199, Institut Pasteur, Lille, France
13. Laboratoire Commun de Biologie et Génétique Moléculaires, Hôpital Saint-Antoine, AP-HP, Paris, France
14. Hôpital Saint-Antoine, AP-HP, Laboratoire Commun de Biologie et Génétique Moléculaires, Paris, France

Mots clefs : MFN2, mitofusine 2, lipodystrophie, lipomatose, Launois-Bensaude, insulinorésistance, physiopathologie, cellules souches adipocytaires

Résumé :

Introduction. Le syndrome de Launois-Bensaude (LB) est une maladie du tissu adipeux caractérisée par la présence de lipomes. Elle est souvent consécutive à un alcoolisme, mais de rares formes génétiques ont été décrites. Parmi celles-ci, quelques très rares mutations du gène *MFN2* ont récemment été impliquées dans des formes autosomiques récessives de la maladie, associée ou non à un Charcot-Marie-Tooth de type 2A. *MFN2* code la mitofusine 2, une protéine clé de la fusion mitochondriale.
Objectifs. Ce travail a pour but de mieux décrire le spectre clinique et biologique ainsi que la physiopathologie des formes de LB liées à *MFN2*, dans la plus large cohorte rapportée à ce jour.
Méthodes. 6 patients provenant de 5 familles indépendantes ont été inclus. Des études ont été menées à la fois *in vivo* et *in vitro* : investigations cliniques et biologiques, imagerie, histologie du tissu adipeux, microscopie électronique, études transcriptionelle et protéique sur biopsie et cellules souches adipocytaires.
Résultats. Tous les patients présentent des lipomes et des signes de lipoatrophie généralisée (perte de tissu adipeux sous-cutané, effondrement de la leptine – biomarqueur de la masse grasse), avec des conséquences métaboliques systémiques (hypertriglycéridémie, insulinorésistance). Les signes neurologiques, qui sont majeurs chez certains patients, peuvent passer inaperçus chez d'autres individus. Tous les patients sont porteurs du même génotype p.Arg707Trp (c.2119C > T) homozygote, cette mutation récurrente étant située sur un point chaud de mutation. Ce génotype conduit à de nombreuses anomalies mitochondriales (augmentation très marquée de leur taille et de leur nombre, désorganisation des crêtes mitochondriales, mitophagie). L'étude histologique et l'analyse des profils d'expression transcriptionnel, protéique et sécrétoire a révélé que les lipomes présentent une morphologie et de nombreuses caractéristiques du tissu adipeux blanc (responsable du stockage et de la mobilisation des triglycérides), mais également des marqueurs de tissu adipeux beige (assurant une fonction thermogénique). Ce dernier résultat est conforté par la mise en évidence au TEP-scan d'une incorporation importante de glucose par ce tissu adipeux, témoignant de son activité métabolique.
Conclusion. Le syndrome de LB lié à *MFN2* est une maladie mitochondriale associée à un tableau clinique et biologique sévère affectant de nombreux organes. Tous les patients décrits à ce jour sont porteurs d'une même mutation (p.Arg707Trp) à l'état homozygote ou hétérozygote composite. Ce génotype conduit à une altération majeure des propriétés mitochondriales et à une prolifération bénigne de cellules adipocytaires ayant des caractéristiques particulières. Enfin, le syndrome de LB nécessite une prise en charge multidisciplinaire, ainsi que la recherche de signes métaboliques et neurologiques infra-cliniques, de manière à retarder ou prévenir la survenue des complications de la maladie.

MFN2, Jeru I et al, Assises, 2018.docx

P503 : Efficience des panels NGS ciblés: expérience dans les dysplasies squelettiques sur 401 patients

Auteurs :

Caroline Michot (1), Sophie Monnot (2), Caroline Alby (2), Sylvain Hanein (3), Coralie Haudry (2), Anne-Laure Tourre (2), Geneviève Baujat (1), Arnold Munnich (3), Jean-Paul Bonnefont (2), 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. Unité de Génétique Moléculaire, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
3. Institut Imagine, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France

Mots clefs : séquençage NGS ciblé, panel NGS, dysplasies squelettiques, maladies osseuses constitutionnelles, retard statural

Résumé :

Le retard statural est un motif fréquent de consultations pédiatriques. Des radiographies de squelette anormales orientent vers le groupe hétérogène des dysplasies squelettiques. Le séquençage par Next Generation Sequencing (NGS) a fortement amélioré la possibilité de tests génétiques pour ces pathologies hétérogènes. Les panels NGS ciblés permettent une optimisation de la couverture des gènes cibles, une imputation facilitée de la causalité des variants et une limitation de la découverte de données incidentales. Nous rapportons l'analyse par panel NGS ciblé de 401 patients ayant un retard statural avec anomalies squelettiques.
Le panel a été conçu sur la base de la nosologie des dysplasies squelettiques, cible 107 gènes et inclut 7 sous-panels: dysplasies acro(méso)méliques, rhizoméliques, épiphysaires ou métaphysaires, ainsi que dislocations multiples, nanismes platyspondyliques et causes syndromiques. Les amplicons sont séquencés sur HiSeq (Illumina) après capture par kit Sure-Select personnalisé (Agilent). L'annotation et l'analyse des variants sont réalisées par une interface informatique maison (PolyWeb). Les résultats sont discutés à la lumière des données clinico-radiologiques avec le Centre de Référence des Maladies Osseuses Constitutionnelles.
Des mutations ont été identifiées chez 156 patients (39%) et des variants de signification inconnue (VUS) chez 47 patients (11%), impliquant 54 gènes différents.
Il existe une disparité de résultats selon l'indication du test. Seulement 13% des cas avec retard statural et anomalies squelettiques mineures ou cadre syndromique (groupe 1, n = 148) ont une mutation identifiée. A l'opposé, 54% des cas avec dysplasies squelettiques marquées (dysplasies acro(méso)méliques, rhizoméliques, épiphysaires ou métaphysaires, dislocations multiples et nanismes platyspondyliques) (groupe 2, n = 253) ont un diagnostic moléculaire.
Les VUS sont plus fréquents dans le groupe 1 (18%) que dans le groupe 2 (7%). Pour les retards staturaux avec anomalies mineures, les VUS concernent quelques gènes récurrents, dont *FGFR3* (n=3) et *IHH* (n=6).
Pour les dysplasies squelettiques marquées, les gènes les plus fréquemment mutés sont: *TRPS1* et *NPR2* (dysplasies acro(méso)méliques), *FGFR3* (dysplasies rhizoméliques), *COL2A1*, *COMP*, *COL11A1* et *TRAPPC2* (dysplasies épiphysaires) et *COL10A1* et *TRPV4* (dysplasies métaphysaires). Pour les dislocations multiples et les nanismes platyspondyliques, des mutations ont été identifiées respectivement chez 14/34 et 7/12 patients, sans genes prépondérants.
Le panel NGS ciblé permet l'élucidation moléculaire dans 54% des cas de dysplasie squelettique, avec un résultat moins probant pour les retards staturaux avec anomalies mineures ou syndromiques. Notre expérience souligne l'importance de l'analyse des résultats moléculaires en combinaison avec le phénotype détaillé. Nous confirmons aussi l'hétérogénéité génétique de ces pathologies et l'utilité d'une analyse par panel NGS régulièrement mis à jour.

P504 : Identification d'une nouvelle mutation du gène SMARCAL1 chez une patiente marocaine atteinte de La dysplasie immuno-osseuse de Schimke avec revue de la littérature.

Auteurs :

Wafaa Jdioui (1), Hanane Merhni (2, 1), naima sadiq (3), Abdelaziz Sefiani (4, 1), Wafaa Jdioui (1)

1. Centre de génomique humaine, Faculté de médecine et de pharmacie, Université Mohammed V Souissi, Rabat, Maroc
2. génétique médicale, institut national d'hygiène, Rabat, Maroc
3. service de pédiatrie, hôpital d'enfants, Rabat, Maroc
4. département de génétique médicale, institut national d'hygiène, Rabat, Maroc

Mots clefs : dysplasie immuno-osseuse, syndrome néphrotique, gène SMARCAL1, nouvelle mutation

Résumé :

La dysplasie immuno-osseuse de Schimke (SIOD) est une maladie multisystémique caractérisée par une dysplasie spondyloépiphysaire associée à un retard statural, une dysmorphie faciale, un déficit immunitaire à cellules T et une glomérulonéphrite avec un syndrome néphrotique. C'est une maladie panethnique avec une prévalence mal connue. La SIOD représente un large spectre qui varie d'une forme infantile ou sévère de début précoce avec un risque de décès à une forme juvénile plus tardive avec survie jusqu'à l'âge adulte à condition que l'atteinte rénale soit jugulée de manière appropriée.
Le diagnostic fait appel à des critères cliniques, radiologiques, biochimiques et immunologiques bien codifiés. La SIOD est due à des mutations du gène SMARCAL1, localisé en 2q35, comportant 18 exons et codant pour la protéine remodelant la chromatine hHARP.
Nous rapportons dans ce travail l'observation d'un enfant de 5ans, née de parents consanguins qui nous a été adressée devant un syndrome néphrotique cortico-résistant avec un retard de croissance intra-utérin, un retard staturo-pondéral et une discrète dysmorphie faciale. L'association avec des anomalies squelettiques, des tâches cutanées café au lait et une lymphopénie à cellules T était très suggestive du syndrome de Schimke.
Le séquençage de la totalité de la séquence codante du gène *SMARCAL1* (exons 3-18) et des régions introniques flanquantes chez notre propositus a mis en évidence la mutation c.2427+5G>C au niveau de l'intron 15 à l'état homozygote. Il s'agit d'une nouvelle mutation affectant le site donneur d'épissage de l'exon 15, n'ayant jamais été rapportée au niveau des bases de données.
L'étude moléculaire permet d'abord de confirmer le diagnostic de SIOD, de proposer la transplantation combinée de la moelle osseuse et rénale comme une approche chez les personnes ayant une fonction rénale et immunitaire en déclin avant d'arriver au stade final et de prodiguer un conseil génétique à la famille.

abstract schimke.docx

P505 : Révélation tardive de la maladie de Gaucher de type 1: à propos d'un cas.

Auteurs :

Faten Hsoumi (1), Houweyda Jilani (1), Imen Rejeb (1), Mariem Cheouch (1), Syrine Hizem (1), Yasmina Elaribi (1), Faten Othmani (2), Lamia Ben Jemaa (1)

1. Service de maladies congénitales et héréditaires, Hôpital Monji Slim, la Marsa, La Marsa, Tunisie
2. Médecine interne, Cabinet de libre pratique, Kasserine, Tunisie

Mots clefs : Maladie de Gaucher, maladie métabolique, lysozyme

Résumé :

Introduction
La maladie de Gaucher est une maladie métabolique rare due à une mutation du gène *GBA* qui code pour une enzyme lysosomale, la béta-glucocérébrosidase. Son déficit entraîne l'accumulation du glucosylcéramide dans les cellules du système réticulo-endothélial. Il existe trois formes de la maladie. Le type 1 est la forme chronique et la plus fréquente associant une hépatosplénomégalie et une pancytopénie. Le type 2 est la forme neurologique aigue et le type 3 est la forme neurologique subaigue. Plus de 200 mutations responsables de la maladie de Gaucher ont été décrites, il n'y a pas de corrélation entre le type de la maladie et la mutation en cause. On rapporte dans ce travail le cas d'une patiente ayant une maladie de Gaucher de type 1 confirmée histologiquement.

Patiente et méthodes
Il s'agit d'une patiente âgée de 27 ans, issue d'un mariage consanguin. L'enquête génétique a trouvé un frère ayant une splénomégalie décédé à 3 ans, un autre frère décédé à l'âge de 1 an dans un contexte fébrile et une sœur décédée à 2 ans dans un tableau de convulsions et d'ecchymoses.
La patiente a eu plusieurs fractures pathologiques des membres supérieurs à l'âge de 24 ans. Elle était suivie pour céphalées et douleurs osseuses diffuses évoluant depuis un an. A l'examen, elle avait une splénomégalie, une scoliose et des tremblements fins des extrémités.

Résultats
La numération formule sanguine a montré une pancytopénie. La biopsie ostéomédullaire a montré la présence de cellules de Gaucher. L'étude moléculaire du gène *GBA* a montré la mutation c.259C > T.
Conclusion
La maladie de gaucher est une maladie de surcharge rare et hétérogène sur le plan clinique. Il n'existe généralement pas de corrélation entre le génotype et le phénotype. En effet, les décès dans la fratrie de notre patiente pourraient être secondaires à une maladie de Gaucher dans sa forme neurologique aigüe, alors que notre patiente avait la forme chronique. En raison de la grande hétérogénéité phénotypique, le diagnostic prénatal est controversé.

Abstract maladie de Gaucher.docx

P506 - DPC : DIAGNOSTIC MOLECULAIRE DE LA MALADIE DE RENDU-OSLER PAR NGS CIBLE ET ETUDE DU RETENTISSEMENT DE VARIANTS INTRONIQUES SUR L'EPISSAGE

Auteurs :

Mélanie EYRIES (1), Philippe CHARRON (2), Marie-France CARETTE (3), Anne LEROY (1), Marie-Christine WAILL (1), Thierry CHINET (2), Florence COULET (1), Pascal LACOMBE (2), Augustin OZANNE (4), Florent SOUBRIER (1)

1. Génétique, Hôpital Pitié-Salpétrière, Paris, France
2. Centre pluridisciplinaire HHT, Hôpital Ambroise Paré, Boulogne, France
3. Centre de compétence Maladie de Rendu Osler, Hôpital Tenon, Paris, France
4. Centre pluridisciplinaire HHT, Hôpital de Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France

Mots clefs : Maladie de Rendu-Osler, Capture ciblée, Epissage, Analyse cDNA

Résumé :

Contexte
La maladie de Rendu Osler (MRO) est une maladie héréditaire de transmission autosomique dominante caractérisée par des épistaxis, des télangiectasies cutanéo-muqueuses et des malformations artério-veineuses (MAV) viscérales. La MRO est considérée comme certaine, probable ou suspecte selon le nombre de critères cliniques présents (critères de Curaçao). Les mutations au sein des gènes ACVRL1 et ENG sont majoritairement responsables de MRO. On retrouve également des mutations au sein du gène SMAD4 dans des formes associées à une polypose juvénile. Récemment, Il a été décrit de rares mutations au sein du gène GDF2.
Objectif
Utiliser une approche de NGS ciblé pour le diagnostic moléculaire de la MRO et étudier le retentissement sur l'épissage de variants introniques potentiellement pathogènes.
Méthode
Analyse de 120 cas index par un panel de capture ciblé incluant les gènes ACVRL1, ENG, GDF2 ainsi que plusieurs gènes impliqués dans d'autres maladies vasculaires héréditaires proches, dont RASA1 impliqué dans le syndrome de malformation capillaire-malformation artério-veineuse (CM-AVM). Analyse par PCR sur l'ADN complémentaire (ADNc) des variants introniques potentiellement pathogènes selon l'analyse *in silico*.
Résultat
Une mutation a été identifiée chez 57 des 120 probands (47,5%).Le taux de mutation est corrélé à la probabilité du diagnostic de MRO selon les critères de Curaçao car il a atteint 73% lorsque le diagnostic est certain, 25% lorsque le diagnostic est possible et aucune mutation n'a été identifiée lorsque le diagnostic est peu probable.
Nous avons identifié 30 mutations ACVRL1 (52.6%), 25 mutations ENG (43.8%) dont 2 dans le promoteur du gène, et 1 mutation SMAD4, cette dernière chez un patient sans signe de polypose juvénile. Une mutation RASA1 a également été identifiée chez une famille présentant un diagnostic possible de MRO. Parmi ces mutations, 4 sont localisées dans des régions introniques hors sites consensus d'épissage (3 ENG : c.67+5G > A, c.68-17G > A, c.817-7C > G et 1 ACVRL1 c.526-12C > G) et ont été initialement classées comme variant de signification inconnue (VUS). L'analyse sur ADNc a permis de confirmer le retentissement sur l'épissage de ces variants et ainsi de les classer comme pathogène.
Conclusion
L'approche de NGS ciblé est un outil efficace pour le diagnostic moléculaire de la MRO permettant l'analyse de tous les gènes connus. L'identification d'une mutation RASA1 montre l'intérêt d'utiliser ces panels élargis pour l'étude des formes frontières entre plusieurs pathologies.
Dans notre cohorte 10.5 % des mutations identifiées sont localisées dans des régions non codantes (promoteur et introns). Ces résultats illustrent l'intérêt de réaliser des analyses sur ARNm afin d'identifier le caractère délétère des variants de signification inconnue et ainsi d'améliorer le diagnostic moléculaire et de permettre la mise en place d'un conseil génétique pour les familles.

Assises2018_HHT NGS.docx

P507 : Xeroderma Pigmentosum en Afrique du Sud : apport du NGS

Auteurs :

Mahlatse NGOKOLO (1), Fanny MORICE-PICARD (2), Hamid REVZANI (3), Mike SATHEKGE (4), Alain TAIEB (2, 3), Cécile GED (3, 5)

1. Dermatology, University of Pretoria, Pretoria, Afrique du Sud
2. Centre de Référence des Maladies Rares de la Peau, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France
3. BMGIC, INSERM U1035-Université de Bordeaux, Bordeaux, France
4. Nuclear Medicine, University of Pretoria, Pretoria, Afrique du Sud
5. Plateau technique de Biologie Moléculaire, CHU de Bordeaux Pôle de Biologie, Bordeaux, France

Mots clefs : génodermatose, génétique des populations, NGS, xeroderma pigmentosum

Résumé :

Le Xeroderma Pigmentosum (XP) est une génodermatose rare, de transmission autosomique récessive, caractérisée par un défaut de réparation de l'ADN lors de lésions induites par les UV, dû à des mutations des gènes du système NER (réparation par excision de nucléotides). Ses manifestations, hypersensibilité cutanéo-muqueuse et oculaire lors de l'exposition UV et survenue précoce de multiples lésions cancéreuses, ont été décrites dans tous les groupes ethniques. Initialement 7 groupes de complémentation ont été identifiés, XPA à XPG, une forme variante XPV, avec actuellement 17 gènes potentiellement impliqués.
Cette pathologie est volontiers sous-diagnostiquée dans les régions isolées où elle se présente trop souvent sous une forme évoluée et invalidante, faute de mesures de photoprotection précoces. Dans le cadre d'une campagne de sensibilisation menée par le Service de Dermatologie de l'Hôpital de Pretoria, 15 familles ont bénéficié d'une évaluation clinico-biologique incluant un diagnostic génétique.
Par argument de fréquence, l'étude a d'emblée ciblé le gène XPC et identifié une mutation commune, déjà décrite dans la population comorienne (défaut d'épissage c.2251 G > C), présente chez 11 des 12 enfants XPC testés. Le 12ème enfant est hétérozygote composite, le second allèle portant une mutation non-sens décrite en Inde. Un effet fondateur a été décrit pour la mutation comorienne, cette extension géographique du défaut génétique éclaire les origines des populations d'Afrique.
La stratégie NGS, utilisant un panel ciblant les gènes de la réparation, utilisée en 2° intention, a permis l'identification de formes XPE et XPD dans un délai très rapide comparé à la stratégie d'analyse classique de séquençage gène par gène. Le diagnostic des formes XPE a été une surprise chez 2 soeurs adultes dont les manifestations cliniques tardives évoquaient une forme XP variant. Quant aux formes XPD, avec une expression limitée à la photosensibilité, elles sont associées dans cette série à des variants faux-sens de la partie distale du gène XPD comme précédemment décrit. 2 patients sont hétérozygotes composites 3 des variants identifiés n'ont jamais été rapportés, sont absents des bases de données et prédits délétères par l'analyse in-silico. Une étude fonctionnelle serait souhaitable comme décrit pour le 4° variant identifié ici et déjà publié.
En conclusion, la stratégie NGS apparait comme un excellent choix pour décrire l'hétérogénéité génétique du Xeroderma Pigmentosum et mettre en évidence une corrélation génotype-phénotype. La réalisation d'un tel diagnostic précocément est essentielle pour guider la prise en charge et le conseil génétique notamment dans les régions où la consanguinité est importante.

P508 : Etude préclinique des effets de la thérapie génique dans un modèle de souris femelles 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, Mecp2

Résumé :

Le syndrome de Rett (RTT) 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 le traitement de souris RTT par un vecteur viral capable the traverser la barrière hémato-encéphalique (le virus AAV9) résultait en une augmentation de la survie des souris traitées (Gadalla et al. 2013; Garg et al. 2013).
Les études précédentes ayant été menées chez des souris RTT mâles déficientes en Mecp2 (modèle de souris KO), nous avons décidé d'étudier les effets de la thérapie géniques chez les souris femelles hétérozygotes (HT) adultes qui expriment partiellement Mecp2 et qui constituent le modèle le plus pertinent pour le RTT.
Nous avons tout d'abord caractérisé les souris HT âgées de 5 mois. Celles-ci présentent déjà des anomalies respiratoires (apnées : 100±15 vs 22±4, souris HT vs souris contrôle WT), ainsi qu'une légère hypoactivité (test d'*open field* : HT=78%±3 vs WT=89%±2). Lorsque les souris HT sont observées sur une période plus longue, on détecte une diminution de la distance totale parcourue en 24h (HT=78%±3% vs WT=100%±12%), alors que leur taux d'inactivité n'est pas différent de celui des souris WT (HT=104%±3% vs WT=100%±4%). Après administration du vecteur viral (10^{E}13particule virale/Kg en i.v.), les souris ont été examinées 8, 16 et 30 semaines après injection. Les résultats montrent une diminution des apnées après traitement qui est significative à 16 (HT : 96±14 ; HT AAV9-MCO : 39±15 ; WT : 20±5) et 30 semaines (HT : 140±62 ; HT AAV9-MCO : 40±10 ; WT : 41±9) post-traitement tandis que l'on observe une amélioration partielle du comportement locomoteur circadien à 30 semaine post-injection (distance parcourue, HT : 40%±6% ; HT AAV9-MCO : 85%±14% ; WT : 100%±7).
En accord avec les résultats obtenus chez les souris RTT mâles (Matagne et al. 2017), on observe aussi une amélioration des déficits respiratoires et moteurs chez les souris femelles. Cependant, au cours de notre étude, nous avons également observé des effets secondaires importants après administration du vecteur viral et la caractérisation des ces effets est actuellement en cours.

2017 AGHM nantes.docx

P509 : Ostéopétrose maligne liée au gène CLCN7 diagnostiquée suite au séquencage de l'exome et traitée par greffe de moelle osseuse

Auteurs :

Solène Conrad (1), Benjamin Cogné (1), Xavier Zanlonghi (2), Caroline Thomas (3), Audrey Grain (3), Wallid Deb (1), Sandra Mercier (1), Mathilde Nizon (1), Bertrand Isidor (1), Thomas Besnard (1), Sébastien Schmitt (1), Stéphane Bézieau (1), Matthieu Delion (4), Matthieu Bendavid (5), Despina Moshous (5), Marie Vincent (1)

1. Service de génétique médicale, CHU Nantes, Nantes, France
2. Service d'Ophtalmologie, Clinique Jules Verne, Nantes, France
3. Service d'Hémato-oncologie pédiatrique, CHU Nantes, Nantes, France
4. Service de neurochirurgie, CHU Angers, Angers, France
5. Unité d'Immunologie, Hématologie et Rhumatologie Pédiatriques , Hôpital Universitaire Necker-Enfants malades, APHP, Paris, France

Mots clefs : Ostéopétrose maligne, CLCN7, exome

Résumé :

Les ostéopétroses forment un groupe de maladies osseuses hétérogènes de par leur sévérité et leur mode de transmission. Elles sont dues à une insuffisance de résorption osseuse par les ostéoclastes, aboutissant à une sclérose généralisée des os longs et du crâne. La forme autosomique récessive, ou maligne, est une forme sévère infantile. Elle conduit généralement au décès dans les dix premières années de vie, notamment par insuffisance médullaire, en l'absence de traitement par greffe de moelle osseuse. Les patients sont également sujets aux fractures, aux neuropathies compressives des nerfs crâniens (cécité, surdité, paralysie faciale) et aux AVC par compression des artères intracrâniennes. Nous rapportons l'observation d'une patiente adressée en consultation de génétique à l'âge de 21 mois pour une cécité bilatérale secondaire à une atrophie des nerfs optiques. Ses parents sont cousins germains. On note lors de son examen clinique une fasciosténose avec une contraction bitemporale et des yeux protrus. Elle présente également un retard statural et un retard à l'éruption dentaire, sans retard sur le plan psychomoteur. Une analyse par WES (Whole Exome Sequencing) a mis en évidence une mutation homozygote dans l'exon 17 du gène CLCN7 (NM_001287.5, c.1577G > A ; p.R526Q), déjà rapportée dans la littérature comme responsable d'ostéopétrose maligne. Les radiographies osseuses ont secondairement révélé une ostéosclérose généralisée des os du crâne et des os longs. La tomodensitométrie cérébrale a révélé une sténose bilatérale des canaux optiques. La décompression chirurgicale des nerfs optiques n'a pas pu être réalisée du fait du stade avancé de la cécité. En revanche, ce diagnostic précoce a permis un traitement par allogreffe de moelle osseuse à l'âge de 2 ans et demi, évitant l'apparition d'une insuffisance médullaire et préservant le pronostic vital. De plus, les parents vont bénéficier d'une prise en charge par diagnostic pré-implantatoire sur le CHU de Nantes pour une prochaine grossesse. Cette observation souligne l'intérêt du diagnostic précoce par WES, qui a permis une prise en charge thérapeutique efficace pour cette patiente.

abstract_assises_osteopetrose_SCONRAD.doc

P510 : Post-mortem diagnosis of Pompe disease by exome sequencing in a Moroccan family

Auteurs :

Najlae ADADI (1), Maryem SAHLI (2), Grégory Egéa (3), Ilham Ratbi (1), Mohamed TAOUDI (3), Layla Zniber (4), Wafaa JDIOUI (2), Laura Raymond (3), Said EL MOUATASSIM (3), Abdelaziz Sefiani (2)

1. Centre de Génomique Humaine, Faculté de Médecine et Pharmacie, Université Mohammed V, Rabat, Maroc
2. Département de Génétique Médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Maroc
3. Département de Génétique Moléculaire, Laboratoire Biomnis, Lyon, France
4. Centre de cardiologie, CHU Ibn Sina, Rabat, Maroc

Résumé :

Pompe disease is an autosomal-recessive lysosomal storage disorder characterized by progressive myopathy with proximal muscle weakness, respiratory muscle dysfunction, and cardiomyopathy. Prevalence ranges between 1/9000 and 1/40000. It is caused by compound heterozygous or homozygous mutations in the GAA gene, which encodes for the lysosomal enzyme alpha glucosidase (GAA), required for degrading of lysosomal glycogen.
In this study, we report a Moroccan consanguineous family with hypertrophic cardiomyopathy and sudden cardiac deaths at early age. Whole Exome Sequencing identifies the deleterious homozygous mutation c.236_246delCCACACAGTGC (p.Pro79ArgfsX13) of *GAA* gene leading to a post mortem diagnosis of Pompe disease. It allowed us to provide an appropriate genetic counseling to the family for the future pregnancies.

P511 : Etude d'association génétique entre les polymorphismes rs4810485 du gène CD40 et rs13031237 du gène REL et la survenue de la spondylarthrite ankylosante dans la population de l'Ouest Algérien

Auteurs :

Chahinez Amira DAHMANI (1), Ahmed BENZAOUI (2), Faouzia ZEMANI-FODIL (3), Mostefa FODIL (3), Elisabeth PETIT TEIXEIRA (4), 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 de Génétique Moléculaire et Cellulaire, USTOMB, Université USTO-MB, ORAN, Algérie
4. Laboratoire Européen de recherche pour la polyarthrite rhumatoïde GenHotel- 3886, Université d'Evry Val d'Essonne, Paris, France, Paris, France

Mots clefs : Spondylarthrite ankylosante, rs13031237, rs4810485, Ouest Algérien

Résumé :

Objectifs : De nombreux gènes ont été associés à la Spondylarthrite Ankylosante (SA) dans différentes populations tels que : ERAP1, ERAP2 et IL-23/IL17. Cependant, ces gènes n'expliquent pas toute l'héritabilité de la SA, ceci ouvre la voie à l'implication d'autres gènes tels que : REL et CD40. Les polymorphismes rs13031237 du gène REL ainsi que le rs4810485 du gène CD40 ont été rapportés étant associés à diverses maladies auto-immunes. Nous avons étudié pour la première fois, l'effet de ces deux polymorphismes sur le développement de la SA dans la population de l'Ouest Algérien.
Méthodes : L'étude a concerné 83 patients atteints de SA et 131 individus sains non apparentés. Le génotypage a été réalisé par PCR en temps réel (Taqman®). Les analyses statistiques ont été effectuées en calculant le test de X^2 et l'Odd Ratio.
Résultats : Nous avons montré d'une part, qu'il ne y avait pas une association significative entre les génotypes et les allèles du polymorphisme rs13031237 du gène REL et le déclenchement de la SA chez les patients par rapport aux contrôles ($p= 0.55$, $p= 0.37$, respectivement). D'une autre part, le polymorphisme rs4810485 du gène CD40 n'a pas été retrouvé associé au déclenchement de la maladie entre les patients et les témoins ($p > 0.05$).
Conclusion : Cette étude semble exclure la contribution des polymorphismes rs13031237 et rs4810485 dans la susceptibilité à la SA. Il serait intéressant d'étudier les autres variations génétiques de ces deux gènes afin de confirmer leurs rôles au cours de la SA.

ABSTRACT 9ème Assise DAHMANI C.A.docx

P512 : Fusion des métacarpiens 4/5 : à propos du premier cas marocain et revue de la littérature

Auteurs :

wafaa Jdioui (1, 2), Siham Chafai El Alaoui (1), Soukaina Guaoua (1, 2), Imane Cherkaoui Jaouad (2), Abdelaziz Sefiani (2, 1)

1. Centre de génomique humaine, Faculté de médecine et de pharmacie, Université Mohammed V Souissi, Rabat, Maroc
2. département de génétique médicale, institut national d'hygiène, Rabat, Maroc

Mots clefs : cas marocain, fusion des métacarpiens, gène FGF16, récessif lié à l'X.

Résumé :

La fusion des métacarpiens 4-5 (MF4; MIM #309630) est une malformation osseuse congénitale très rare de la main. Phénotypiquement, cette anomalie est caractérisée par une déviation ulnaire des deux cinquièmes doigts, une clinodactylie bilatérale et un raccourcissement bilatéral des cinquièmes métacarpiens. La radiographie de la main montre une fusion partielle ou complète des quatrième et cinquième métacarpiens. Cette anomalie peut être isolée ou faire partie d'un syndrome génétique. Des mutations non sens du gène *FGF16* ont été décrites dans des cas de MF4 récessifs liés à l'X.
Nous rapportons le cas d'un garçon marocain âgé de 18 mois avec fusion des métacarpiens 4-5, chez qui le séquençage Sanger de la totalité de la séquence codante du gène *FGF16* a été réalisé. Le séquençage du gène *FGF16* a mis en évidence une mutation déjà connue (c.C535T; p.R179X) au niveau de l'exon 3 du gène. Cette mutation a été retrouvée à l'état hétérozygote chez la mère du propositus cliniquement non atteinte.
Ces résultats montrent que la mutation tronquante (c.C535T; p.R179X) du gène *FGF16,* responsable de la fusion des métacarpiens récessive liée à l'X, est récurrente chez des patients appartenant à différents groupes ethniques.

abstract fusion des métacarpiens.docx

P513 : Nouveau syndrome autosomique récessif d'ichtyose congénitale létale avec dysimmunité

Auteurs :

Perrine Pennamen (1, 2), Marie-Laure WINTER (3, 1), Angela TINGAUD-SEQUEIRA (2), Fanny PELLUARD (4), Claire LARMONIER (5), Marie BERENGUER (2), Fanny MORICE-PICARD (6), Patricia FERGELOT (1), Sophie Naudion (7), Caroline ROORYCK-THAMBO (2, 1)

1. Génétique Biologique, CHU Pellegrin, Bordeaux, France
2. Laboratoire MRGM- Inserm U1211, Université Bordeaux, Bordeaux, France
3. Service de Génétique Clinique, Hôpital Bretonneau , TOURS, France
4. Unite de foetopathologie, Service de pathologie, CHU Pellegrin, Bordeaux, France
5. Laboratoire d'immunologie et immunogenetique, CHU Pellegrin, Bordeaux, France
6. Service de Dermatologie Pédiatrique, CHU Pellegrin, Bordeaux, France
7. Génétique Médicale, CHU Pellegrin, Bordeaux, France

Mots clefs : Ichtyose, Foetopathologie, Dysimmunité, Exome, IL2RB, Lymphocytes T Régulateurs,

Résumé :

Nous décrivons ici 3 fœtus issus de grossesses successives d'un couple à haut degré de consanguinité, présentant une ichtyose congénitale létale. Dans cette famille avec double boucle de consanguinité, où ségrègent déjà 4 pathologies génétiques autosomiques récessives, nous avons identifié, grâce au séquençage d'exome, une cause génétique inédite expliquant probablement le phénotype de ces fœtus.
En anténatal les fœtus présentaient un retard de croissance intra-utérin sévère avec arthrogrypose, hydramnios, et squames cutanées flottant dans le liquide amniotique. A l'examen fœtopathologique, une peau fine et translucide avec des plages d'hyperkératose a fait évoquer une ichtyose congénitale précoce et sévère.
Après avoir éliminé, par séquençage ciblé, plusieurs gènes de syndromes avec ichtyose congénitale (dermopathie restrictive, syndrome de Taybi-Linder, syndrome de Neu Laxova), l'exome a permis l'identification d'un variant non-sens homozygote dans le gène *IL2RB* chez les 3 fœtus, présent à l'état hétérozygote chez chacun des parents et absent chez le 1er enfant du couple, non atteint. Ce variant, responsable d'un codon stop prématuré, très précoce dans la séquence protidique, n'est présent dans aucune base de données (dont GnomAD). L'effet prédit serait une protéine tronquée, qui ne pourrait plus s'ancrer à la membrane et se lier à ses partenaires. L'examen histologique réalisé chez les fœtus montrait des infiltrations de cellules mononuclées de la peau et de plusieurs organes. L'analyse immuno-histo chimique a révélé que les cellules infiltrant les tissus sous cutanés et certains organes sont composées de lymphocytes T (LT) CD3, CD4 et CD8 ainsi que des lymphocytes B CD20+. Le gène *IL2RB* code la sous unité beta du récepteur commun à l'IL2 et à l'IL15. Ce récepteur est exprimé sur les LT au repos, à l'état de dimère avec la sous unité gamma, commune à plusieurs récepteurs des cytokines (IL2, 4, 7, 9, 15 and 21). Après activation des LT par l'antigène, la sous-unité alpha est exprimée et la fixation de l'IL2 ou de l'IL15 permet la transduction du signal via la voie Jak/Stat. Le récepteur à l'IL2 induit notamment l'expression de *FOXP3*, nécessaire au fonctionnement des LT régulateurs (Tregs). Les Tregs sont les acteurs principaux de l'homéostasie immunitaire et régulent la tolérance envers les antigènes du soi. Leur absence entraine une auto-immunité chez les souris avec KO *Il2rb,* qui peut être empêchée par greffe allogénique de Tregs. Les lésions dysimmunitaires observées chez nos fœtus pourraient être liées à l'absence de Tregs du fait de l'absence de signal par l'IL2R. A notre connaissance, il s'agit de la première et seule description d'une mutation perte de fonction homozygote d'*IL2RB* chez l'Homme, probablement responsable d'un phénotype létal d'ichtyose congénitale dysimmunitaire.

P514 : l'IRM cérébrale comme outil diagnostic des cytopathies mitochondriales

Auteurs :

isaure de beaurepaire (1), david grévent (1), marlene rio (2), isabelle desguerre (3), pascale de lonlay (2), raphaël levy (1), volodia dangouloff-ros (1), giulia barcia (2), metodiev metodi (2), benedetta ruzzenente (2), zahra assouline (2), benoit funalot (2, 4), jean-paul bonnefont (2), arnold munnich (2), agnes rotig (2), nathalie boddaert (1)

1. radiopediatrie, hopital necker, paris, France
2. genetique, hopital necker, paris, France
3. neurologie pédiatrique, hopital necker, paris, France
4. genetique, hopital henri mondor, creteil, France

Mots clefs : Mitochondrie, Cytopathie mitochondriale, Imagerie par résonnance magnétique, Spectroscopie par résonnance magnétique, Diagnostic, Tronc cerebral, Noyaux gris centraux, Lactates

Résumé :

Les cytopathies mitochondriales (CM), première cause de troubles métaboliques congénitaux, sont de diagnostic difficile, notamment en raison de la grande hétérogénéité de la symptomatologie clinique associée.
Dans cette étude, nous avons analysé rétrospectivement 189 IRM cérébrales de patients présentant des signes neurologiques compatibles avec une CM, isolés ou associés à une atteinte multiviscérale évolutive inexpliquée, et une enzymologie évocatrice. 152 patients étaient effectivement porteurs de CM après analyse génétiques et 37 patients étaient finalement porteurs d'une autre mutation non mitochondriale. 23 signes radiologiques et 16 associations de signes étaient recherchés.
Nous avons mis en évidence quatre signes radiologiques hautement évocateurs de CM : l'hypersignal du tronc cérébral, d'au moins un noyau gris central, du pallidum en particulier, et la présence d'un pic de lactate sur la spectroscopie ($p \leq 0.001$). De même, l'association d'un hypersignal du tronc cérébral et d'un noyau gris central ($p \leq 0.001$), ainsi que l'association d'un pic de lactate et d'un hypersignal du tronc cérébral ou d'un noyau gris central ($p \leq 0.01$) orientent fortement vers une CM. L'IRM cérébrale était trois fois moins fréquemment normale dans le groupe porteur de CM. Au total, quatorze signes ou associations de signes avaient une valeur prédictive positive supérieure à 95%.
De plus, certaines anomalies permettent un diagnostic encore plus précis, orientant vers une origine génétique mitochondriale ou nucléaire.
Enfin, le principal diagnostic différentiel était la mutation *SLC19A3*, qui doit donc être recherchée.
A la lumière de ces résultats, et dans une population suspecte de CM, l'IRM cérébrale se présente donc comme un complément performant aux méthodes diagnostiques couteuses et invasives habituellement pratiquées.

Les cytopathies mitochondriales.docx

P515 - DPC : Premier cas de non compaction ventriculaire gauche associée à une microdélétion impliquant le gène TAB2

Auteurs :

Anne-Claire Bréhin (1), Isabelle Durand (2), Géraldine Joly-Hélas (3), Pascal Chambon (3), Didier Pinquier (4), Tristan Hazelzet (5), Thierry Frebourg (1), Alice Goldenberg (1)

1. Département de Génétique, CHU de Rouen et Inserm U1245, Normandie Univ, Centre Normand de Génomique et de Médecine Personnalisée, Rouen, France
2. Département de Pédiatrie, CHU de ROUEN, rouen, France
3. Laboratoire de Cytogénétique, Département de Génétique, CHU de Rouen et Inserm U1245, Normandie Univ, Centre Normand de Génomique et de Médecine Personnalisée, Rouen, France
4. Département de Néonatologie, CHU de ROUEN, rouen, France
5. Département de Pédiatrie, CHU de ROUEN, Rouen, France

Mots clefs : Non-compaction du ventricule gauche; cardiogénétique; TAB2

Résumé :

La non-compaction ventriculaire myocardique est une anomalie congénitale rare de la morphogenèse ventriculaire isolée ou associée à d'autres anomalies cardiaques. La forme la plus fréquente est la non-compaction du ventricule gauche (NCVG) dont l'origine, encore discutée, pourrait être secondaire à un arrêt de l'embryogenèse du ventricule gauche. Les bases génétiques de la NCVG sont complexes et hétérogènes et, au cours des 10 dernières années, plusieurs gènes impliqués ont été identifiés. Nous rapportons l'observation d'un patient actuellement âgé de 6 ans, né à terme à l'issue d'une grossesse marquée par la découverte à 28 SA d'une cardiomégalie avec des ventricules dilatés et une altération de la contraction biventriculaire faisant suspecter une cardiomyopathie. A la pointe du ventricule droit, il était constaté de grosses trabéculations. En période postnatale, l'enfant a rapidement développé une insuffisance cardiaque contrôlée par traitement médical. L'échographie néonatale confirmait le diagnostic anténatal de cardiomyopathie dilatée hypokinétique avec des trabéculations très importantes à la pointe des deux ventricules associée à un mouvement paradoxal du septum interventriculaire. Les paramètres de naissance étaient normaux. L'examen clinique a noté une dysmorphie avec un excès de peau au niveau de la nuque et des mains, une hypoplasie unguéale d'un des gros orteils, une clinodactylie bilatérale des 5èmes doigts, de petites oreilles implantées bas et en rotation postérieure, un front haut et une hyperlaxité distale. Cet enfant a ensuite présenté des difficultés d'alimentation avec un retard de croissance staturo-pondérale à -2DS, une hypotonie axiale puis un retard global des acquisitions et des troubles modérés du comportement. Il est actuellement scolarisé avec une auxiliaire de vie scolaire. Le bilan étiologique initial, qui comprenait un caryotype, une recherche de délétion 22q11.2 et l'étude des gènes impliqués dans le syndrome de Noonan, n'a pas révélé d'altération. En revanche, la CGH-array a mis en évidence une microdélétion 6q24.3-6q25.1 de 2,9 Mb survenue *de novo* permettant d'expliquer le retard psychomoteur syndromique. Cette délétion emporte 28 gènes dont 4 impliqués en pathologie humaine, parmi lesquels le gène *TAB2.* L'haploinsuffisance de *TAB2* a été décrite comme associée à des atteintes cardiaques variées allant d'anomalies cardiaques valvulaires ou structurelles au développement de cardiomyopathies à fonction systolique réduite mais également à une dysmorphie aspécifique, un retard de croissance, une déficience intellectuelle et des anomalies du tissu conjonctif. Cependant, l'haploinsuffisance de *TAB2* n'avait jamais été impliquée dans les NCVG. Nous décrivons donc ici le premier cas de phénotype de non-compaction ventriculaire gauche de manifestation anténatale liée à une haploinsuffisance du gène *TAB2.* Notre observation suggère que ce gène devrait être analysé lors de l'exploration moléculaire des NCVG.

P516 : Un arbre décisionnel pour le diagnostic génétique du déficit en adénosine déaminase de type 2 (DADA2) : l'expérience du centre de référence français

Auteurs :

Mélanie Rama (1), Claire Duflos (2), Isabelle Melki (3, 4), Didier Bessis (5), Axelle Bonhomme (6), Hélène Martin (6), Diane Doummar (7, 8), Stéphanie Valence (7), Diana Rodriguez (7, 8), Emilie Carme (9), David Genevieve (10, 11), Ketil Heimdal (12), Antonella Insalaco (13), Nathalie Franck (14), Viviane Queyrel Moranne (15), Nathalie Tieulie (15), Jonathan London (16), Florence Uettwiller (17), Sophie Georgin-Lavialle (18), Alexandre Belot (19), Isabelle Koné-Paut (20), Véronique Hentgen (21), Guilaine Boursier (22), Isabelle Touitou (1, 11), Guillaume Sarrabay (1, 11)

1. Laboratoire des maladies rares et auto-inflammatoires, et CEREMAIA, CHU Montpellier, Montpellier, France
2. Département de l'information médicale, CHU Montpellier, Montpellier, France
3. Département de pédiatrie générale, maladies infectieuses et médecine interne, Hôpital Robert Debré, Paris, France
4. Département d'hématologie, immunologie et rhumatologie pédiatrique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
5. Département de dermatologie, CHU Montpellier, Montpellier, France
6. Département de dermatologie, Hôpital d'Instruction des Armées Legouest, Metz, France
7. Neurologie pédiatrique et Centre national de référence pour les maladies neurogénétiques, Hôpital Trousseau, Paris, France
8. GRC ConCer-LD, Sorbonne Université, Paris, France
9. Neuropédiatrie, Hôpital Gui de Chauillac - CHU Montpellier, Montpellier, France
10. Département de génétique médicale, CHU Montpellier, Montpellier, France
11. Génétique et immunopathologie des maladies inflammatoires ostéoarticulaires, INSERM UMR1183, Institut de médecine régénérative et biothérapies, Montpellier, France
12. Département de génétique médicale, Oslo University Hospital, Oslo, Norvège
13. Département de rhumatologie, IRCCS Pediatrico Bambino Gesù Children's Hospital, Rome, Italie
14. Département de dermatologie, Hôpital Cochin, Paris, France
15. Médecine interne, CHU Nice, Nice, France
16. Médecine interne, Hôpital Cochin, Paris, France
17. Unité de pédiatrie immunologie, hématologie et rhumatologie, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
18. Médecine interne, Hôpital Tenon, Paris, France
19. Département de néphrologie, rhumatologie, dermatologie pédiatrique, RAISE, CHU Lyon, Lyon, France
20. Département de rhumatologie pédiatrique, CEREMAIA, Hôpital Bicêtre, Paris, France
21. Département de pédiatrie, CEREMAIA, Hôpital Versailles, , Paris, France
22. Laboratoire de génétique des maladies rares et auto-inflammatoires, CHU Montpellier, Montpellier, France

Mots clefs : maladie auto-inflammatoires, DADA2, diagnostic génétique, arbre décisionnel, vascularite

Résumé :

Le déficit en adénosine deaminase de type 2 (DADA2) est une maladie auto-inflammatoire (MAI) monogénique récemment décrite, à transmission autosomique récessive. L'analyse moléculaire est nécessaire afin de confirmer le diagnostic. Nous avons décrit les tableaux cliniques et les génotypes des patients adressés au centre de référence des maladies auto-inflammatoires et de l'amylose inflammatoire (CEREMAIA) afin d'améliorer les indications du test génétique. Nous avons analysé, par séquençage Sanger ou NGS, l'ADN de 66 patients avec une suspicion clinique de DADA2. Les données cliniques, biologiques et épidémiologiques ont été collectées grâce à une fiche clinique détaillée. Nous avons comparé ces données pour les patients avec ou sans conformation moléculaire de DADA2. Treize patients (19.6%) présentent des mutations bi-alléliques confirmant le diagnostic, parmi lesquels 8 sont hétérozygotes composites. Nous décrivons dans cette série 7 nouvelles mutations: 4 variants faux-sens, 2 variants d'épissage et 1 variant décalant le cadre de lecture. Pour les 13 patients génétiquement confirmés, l'âge moyen d'apparition de la maladie était de 12.7 ans, et l'âge moyen au diagnostic était de 20.8 ans. Les manifestations cliniques regroupaient fièvre (85%), vascularite (85%) et atteinte neurologique (54%). Les combinaisons de signes cliniques les mieux associés à un génotype confirmatoire étaient : fièvre avec atteinte neurologique (odds ratio [OR] 10.71, p=0.003), fièvre avec atteinte cutanée (OR 10.9, p<0.001), fièvre isolée (OR 8.1, p=0.01), élévation de la CRP avec atteinte neurologique (OR 6.63, p=0.017). Nous proposons un arbre décisionnel pour améliorer la stratégie diagnostique génétique du DADA2. Ainsi, les pré-requis pour un diagnostic plus rapide et moins coûteux comprennent : une atteinte cutanée ou neurologique associée à une inflammation systémique (fièvre ou CRP élevée), et pour les adultes, au moins 2 accès, ou une présentation chronique.

abstract_DADA2.docx

P517 : Identification d'une nouvelle délétion de 21pb, dans le gène MT-CYB, et intérêt du NGS pour les patients déjà explorés par PCR-Surveyor et Mitochips

Auteurs :

Sylvie BANNWARTH (1), Cécile ROUZIER (1), Annabelle CHAUSSENOT (1), Konstantina FRAGAKI (1), Samira Ait-El-Mkadem (1), Véronique PAQUIS-FLUCKLINGER (1)

1. Service de Génétique Médicale, CHU Nice, Nice, France

Mots clefs : Diagnostic des maladies mitochondriales, NGS, MT-CYB

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. Dans le centre de référence des maladies mitochondriales de Nice (CALISSON) nous réalisons leur diagnostic en suivant la stratégie suivante : recherche des mutations de l'ADNmt par séquençage haut débit (NGS) ; lorsque cette recherche est négative, un séquençage par NGS d'un panel de gènes nucléaires ciblé « mitochondriopathies » (303 gènes) est réalisé. Dans certains cas demeurant sans diagnostic génétique, une analyse d'exome est effectuée pour tenter d'identifier le gène responsable.
Avant l'avènement du NGS, nous avions développé la technique de PCR-Surveyor pour rechercher les variants hétéroplasmiques sur la totalité de l'ADNmt. Cette technique a permis de démontrer, à partir d'une cohorte nationale de 743 patients, l'importance de l'analyse exhaustive de l'ADNmt pour l'amélioration du diagnostic des pathologies mitochondriales (PSTIC - S. Bannwarth *et al.*, J. Med. 2013).
Nous avons évalué l'apport du NGS, en terme de sensibilité de détection des variants hétéroplasmiques de l'ADNmt, par rapport à la PCR-Surveyor. Sur une cohorte de 20 patients, suspects de maladie mitochondriale, chez lesquels aucun variant pathogène n'avait été mis en évidence par PCR-Surveyor et Mitochips, nous avons réalisé un NGS. De façon intéressante, cette nouvelle analyse a permis de mettre en évidence 2 variants pathogènes hétéroplasmiques: le variant m.5703G > A (*MT-TN*) déjà connu et une délétion, jamais décrite, de 21pb, dans le gène *MT-CYB* qui entraîne un délétion de 7 acides aminés. Cette délétion est retrouvée, à un fort taux d'hétéroplasmie, dans le muscle d'une patiente qui présente une pathologie mitochondriale caractérisée par une encéphalomyopathie qui a débuté dans l'enfance associée à une atrophie optique. A partir de la biopsie musculaire :
1- l'analyse histologique a mis en évidence la présence de nombreuses fibres RRF sans fibres COX-négatives ;
2- en spectrophotométrie, l'analyse de l'activité des différents complexes de la chaîne respiratoire a montré un déficit du complexe I avec un défaut d'assemblage des complexes I et III observé en BN-PAGE.
Nous avons ainsi identifié une nouvelle délétion, dans le gène *MT-CYB*, responsable d'un défaut d'assemblage de la chaîne respiratoire. Cette étude montre également l'importance de rechercher les variants de l'ADNmt par NGS, chez les patients suspects de pathologie mitochondriale, pour lesquels aucun variant n'a été detecté par la technique de PCR-Surveyor et Mitochips.

S. Bannwarth et al-Assises 2018.docx

P518 : Extension du spectre clinique lié aux mutations bi alléliques de PPA2 : de la mort subite cardiaque à un âge variable, à une intolérance à l'alcool et un syndrome cérébelleux chez les survivants.

Auteurs :

Anne GUIMIER (1, 2), Anne MOREAU (3), Claire TURNER (4), Megan GROVE (5), Kyla DUNN (6), Girisha KATTA (7), Ian CROZIER (8), Alexa KIDD (9), Fanny BAJOLLE (3), Damien BONNET (10), Johannes MAYR (11), Agnès ROTIG (2), Jean Paul di RAGO (12), Agnès DELAHODDE (13), Stanislas LYONNET (2), Hannah KENNEDY (14), Kit DOUDNEY (14), Chris GORDON (2), Jeanne AMIEL (2, 15)

1. Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, Paris, France
2. Inserm U1163, Institut Imagine, Paris, France
3. Service de Cardiopédiatrie, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France
4. ROYAL DEVON AND EXETER NHS FOUNDATION TRUST, ROYAL DEVON AND EXETER NHS FOUNDATION TRUST, Exeter, Royaume Uni
5. Clinical Genomics Service, Stanford Children's Health, Palo Alto, Etats-Unis
6. Stanford Center for Inherited Cardiovascular Disease, Stanford Children's Health, Palo Alto, Etats-Unis
7. Department of Medical Genetics, Kasturba Medical College, Manipal, Inde
8. Department of cardiology, Christchurch Hospital, Christchurch, Nouvelle-Zélande
9. Department of Medical Genetics, Christchurch Hospital, Christchurch, Nouvelle-Zélande
10. service de cardiopédiatrie, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France
11. Department of pediatrics, Paracelsus Medical University Salzburg, Salzburg, Autriche
12. IBGC CNRS, Université de Bordeaux, BORDEAUX, France
13. Institute for Integrative Biology of the Cell (I2BC), Université Paris-Sud, Saclay, France
14. Molecular Pathology Laboratory, canterbury health Laboratories, Christchurch, Nouvelle-Zélande
15. Service de Génétique, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France

Mots clefs : mort subite cardiaque, maladie mitochondriale, pyrophosphatase mitochondriale

Résumé :

Des mutations hypomorphes bi alléliques du gène *PPA2* ont récemment été identifiées par une stratégie de séquençage d'exome dans des familles avec récidive de mort subite cardiaque (MSC) chez le nourrisson et l'adulte jeune.
PPA2 code pour une pyrophosphatase mitochondriale dont l'activité est essentielle au métabolisme énergétique de la cellule. Cependant les mécanismes physiopathologiques à l'origine des arrêts cardiaques restent mal compris.
Sept familles ont précédemment été rapportées avec une présentation clinique très variable : mort subite cardiaque chez le nourrisson bien portant ou de l'adolescent au décours d'une consommation minime d'alcool, tableau de cardiomyopathie foudroyante et, adultes développant une fibrose myocardique, porteurs d'un défibrillateur intracardiaque. La plupart des patients présentent une fibrose cardiaque à l'histologie ou à l'IRM.
Grâce à une collaboration internationale, nous rapportons ici cinq nouvelles familles avec mutations bi alléliques de *PPA2* et récidive dans la fratrie de MSC chez le nourrisson et l'adolescent. Parmi les quatre mutations identifiées dans ces familles, certaines sont récurrentes et déjà connues (c.683C>T, p.Pro228Leu et c.514G>A, p.Glu172Lys) et deux sont nouvelles (c.340A>G, p.Met114Val et c.655+5G>A).
De façon intéressante, les patients d'une de ces nouvelles familles présentent une intolérance à l'alcool comme c'est le cas chez les patients de la famille rapportée par Kennedy, et al (1). Les patients survivants développent ensuite un tableau neurologique avec syndrome cérébelleux.
L'histoire naturelle de cette nouvelle maladie mitochondriale par mutations du gène *PPA2* s'enrichit avec la description de nouveaux signes cliniques neurologiques. L'identification de nouvelles familles et le suivi à long terme des patients survivants permettront de mieux comprendre la physiopathologie et d'établir une corrélation génotype-phénotype.

(1) Hannah Kennedy, et al. Sudden Cardiac Death Due to Deficiency of the Mitochondrial Inorganic Pyrophosphatase PPA2The American Journal of Human Genetics, Volume 99, Issue 3, 1 September 2016, Pages 674-682

P519 : Une forme modérée et sous diagnostiquée d'albinisme : analyse phénotypique des hétérozygotes composites porteurs du variant R402Q du gène TYR.

Auteurs :

Solene Monferme (1), Eulalie Lasseaux (2), Vincent Michaud (2), Claudio Plaisant (2), Fanny Morice-Picard (3), Perrine Pennamen (4), Jean-François Korobelnik (1), Alain Taieb (3), Christian Hamel (5), Sabine Defoort (6), Hélène Dollfus (7), Xavier Zanlonghi (8), Catherine Duncombe-Poulet (9), Dominique Bonneau (10), Clément Paya (11), Benoit Arveiler (2)

1. Service Ophtalmologie, CHU Bordeaux , BORDEAUX, France
2. Service de Génétique Médicale, CHU Bordeaux, Bordeaux, France
3. Service de Dermatologie Pédiatrique, CHU Bordeaux, Bordeaux, France
4. Service de Génétique Médicale, CHU Bordeaux , BORDEAUX, France
5. Service Ophtalmologie, CHU de Montpellier, Montpellier, France
6. Service Ophtalmologie, CHRU LILLE, LILLE, France
7. Service de Génétique Médicale, CHU Strasbourg, STRASBOURG, France
8. Ophtalmologie, Cabinet, Nantes, France
9. Ophtalmologie, Cabinet, Caen, France
10. Service de Génétique Médicale, CHU Angers, Angers, France
11. Service Ophtalmologie, CHU Bordeaux, BORDEAUX, France

Mots clefs : Albinisme, TYR, Phénotype, modéré

Résumé :

L'albinisme est une affection génétique qui constitue la deuxième cause la plus fréquente de perte congénitale d'acuité visuelle dans les pays industrialisés après l'atrophie optique. L'albinisme est hétérogène sur les plans clinique et génétique et est caractérisé par des anomalies du développement oculaire et un degré variable d'hypopigmentation.
L'OCA type 1 est dû à des mutations du gène *TYR*. R402Q (c.1205G > A/p.Arg402Gln) est un variant thermosensible du gène *TYR* (25% d'activité catalytique normale à la température corporelle de 37°) dont un rôle est suspecté dans des formes modérées ou oculaires pures d'OCA1. L'implication de ce variant est controversé dans la littérature de par sa fréquence (17.6% gnomAD), sa pénétrance incomplète (parents asymptomatiques ayant ce variant en trans d'un variant pathogène). A l'état homozygote ce variant n'est pas responsable d'albinisme. Un phénotype d'albinisme oculo-cutané modéré de ce variant n'est observé qu'en cas d'association en trans à un autre variant pathogène du gène TYR. L'objectif de l'étude était de définir le phénotype associé à ce variant dans une large série de patient.
METHODE: Une étude rétrospective a inclus tous les patients hétérozygotes composites présentant le variant R402Q et un autre variant pathogène du gène *TYR* : groupe R402Q-OCA1 (n=122). La ségrégation des mutations a été vérifiée chez 69 patients. Le groupe contrôle est constitué de patients présentant deux variants pathogènes autres que R402Q (groupe Classical-OCA1, n=119). Des données cliniques ont été recueillies sur dossiers.
RESULTAS: Les patients R402Q-OCA1 présentaient le plus souvent des cheveux blancs ou blanc-jaunes à la naissance (71.43%), blonds plus tard (46.97%), un phototype clair mais avec possibles naevi ou tendance à pigmenter (69.64%), des yeux bleus (75.56%). Leurs peau, cheveux et iris étaient significativement plus pigmentés que dans le groupe classical-OCA1 avec des teintes allant jusqu'au brun. Tous les patients du groupe R402Q-OCA1 présentaient les atteintes ophtalmologiques de l'albinisme. Les prévalences de photophobie (78,13%) et d'hypopigmentation rétinienne (83.87%) dans ce groupe étaient cependant plus faibles que dans le groupe classical-OCA1. La sévérité des scores de transillumination irienne et d'hypoplasie fovéolaire était plus faible dans le groupe R402Q-OCA1. Enfin, l'acuité visuelle y était plus élevée avec une moyenne de 0,38±0,21 LogMAR (vs 0.76±0.24) et au moins 20/40 Snellen chez 32.56% des patients (vs 4.55%).
CONCLUSION: En *trans* d'un variant pathogène le variant hypomorphe R402Q est responsable de formes d'intensité variable et souvent modérées d'albinisme pouvant demeurer non diagnostiquées et nécessitant un bilan et suivi ophtalmologique précoce pour optimiser le diagnostic et le pronostic visuel.

P520 - DPC : Identification et caractérisation fonctionnelle des premiers variants sur le gène SLC8A1 responsables de fibrillations ventriculaires idiopathiques, de syndromes de l'onde J et de syndromes du QT court.

Auteurs :

Franck Chizelle (1), Taisuke Ishikawa (2), Gildas Loussouarn (1), Takahiro Iwamoto (3), Julien Barc (1), Vincent Probst (4), Florence Kyndt (1), Richard Redon (1), Naomasa Makita (2), Flavien Charpentier (1), Jean-Jacques Schott (1)

1. Inserm UMR S1087, CNRS UMR 6291, L'institut du thorax, Nantes, France
2. Department of Molecular Physiology, Nagasaki University, Nagasaki, Japon
3. Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, Fukuoka University, Fukuoka, Japon
4. Service de Cardiologie, CHU de Nantes, L'institut du thorax,, Nantes, France

Mots clefs : SLC8A1 - NCX1 - syndrome du QT court - syndrome de l'onde J - fibrillation ventriculaire idiopathique - homéostasie calcique

Résumé :

INTRODUCTION: La fibrillation ventriculaire idiopathique, le syndrome de l'onde J et le syndrome du QT court sont des maladies électriques cardiaques causant des syncopes et des morts subites. Ces atteintes ont déjà été liées à des mutations sur plusieurs gènes codant pour des canaux ioniques cardiaques. Toutefois, pour de nombreux patients, les causes de ces pathologies restent inconnues. Notre objectif a été d'identifier les gènes morbides chez ces patients.
MÉTHODES ET RÉSULTATS: Par une approche de séquençage sur un panel de 165 gènes (HaloPlex Custom Kits), nous avons identifié 7 variants rares sur le gène *SLC8A1*, qui code pour l'échangeur sodium/calcium NCX1, au sein de 3 cas index français et 4 cas index japonais. Quatre sont situés sur la boucle régulatrice intracellulaire de NCX1 (I409V, T517P, E578G et P687HfsX2), 2 sur la boucle reliant les domaines 9 et 10 (P940S et R941Q), et 1 dans un domaine transmembranaire (L218H). NCX1 participe à la régulation de l'homéostasie calcique dans le cardiomyocyte en extrudant 1 ion Ca^{2+} contre l'entrée de 3 ions Na^{+}. Cette entrée nette de charge positive dans le cardiomyocyte est responsable d'un courant entrant dépolarisant durant la phase plateau du potentiel d'action cardiaque.
Une étude de patch-clamp réalisée sur des cellules COS-7 transfectées avec le gène *SLC8A1* humain sauvage ou possédant les différentes mutations identifiées a montré que les mutations conduisent à des diminutions de densités de courant I_{NCX} de 50% à plus de 80% (P687HfsX2 et L218H respectivement).
Les perturbations de l'homéostasie calcique ont été investiguées par des mesures de capture de Ca^{2+} radioactif et ont aussi démontré un défaut de recapture du Ca^{2+} à l'intérieur des cellules exprimant les NCX1 mutés en comparaison de NCX1 sauvage.
Ces pertes de fonctions de NCX1 ont pu être corrélées à des défauts d'adressage à la membrane de l'échangeur pour 3 des 7 mutants étudiés, visualisés par immunofluorescence.
Pour comprendre de quelle manière des mutations sur le gène *SLC8A1* peuvent être responsables des pathologies des patients, nous avons simulé les effets de 50% ou 75% de perte de fonctions de NCX1 à l'aide d'un modèle *in silico* de potentiel d'action et de pseudo-ECG. Dans les deux conditions, des raccourcissements de la durée du potentiel d'action et de l'intervalle QT ont été prédits. Ce modèle met également en évidence une accumulation de Ca^{2+} libre intracellulaire dans le cardiomyocyte.
CONCLUSION: L'étude fonctionnelle des premiers variants génétiques sur le gène *SLC8A1* a mis en évidence des pertes de fonction de NCX1, aboutissant à des désordres électriques et à des défauts de prise en charge du Ca^{2+} intracellulaire. NCX1 pourrait constituer une nouvelle cible thérapeutique dans des contextes de fibrillations ventriculaires idiopathiques ou de syndromes du QT court et de l'onde J.

Résumé assises génétique 2018 VF.docx

P521 : Analyse moléculaire par séquençage à haut débit des anomalies cutanées du développement en mosaïque

Auteurs :

Virginie Carmignac (1, 2), Paul Kuentz (3, 4), Arthur Sorlin (5), Yannis Duffourd (1, 6), Jean-Baptiste Rivière (7, 8), Martin Chevarin (5), Thibaud Jouan (9), Charlotte Poë (10), Judith Saint-Onge (7), Frederic Tran Mau Them (1), Christel Thauvin Robinet (11, 12), Laurence Faivre (13, 6), Christophe Philippe (11), Pierre Vabres (5, 14), M.U.S.T.A.R.D. investigateurs de la cohorte (5, 14)

1. Equipe Génétique des Anomalies du Développement, Unité fonctionnelle d'Innovation en Diagnostic génomique des maladies rares, INSERM UMR1231 Université de bourgogne CHU dijon, Dijon, France
2. centre de reference MAGEC Dijon Mosaïque, service de dermatologie, CHU Dijon Bourgogne, Dijon, France, Dijon, France
3. service de Génétique Biologique , CHRU Besançon, Besançon, France
4. Equipe Génétique des Anomalies du Développement, INSERM UMR1231, Université de Bourgogne-Franche Comté, Dijon, France
5. Equipe Génétique des Anomalies du Développement, Unité fonctionnelle d'Innovation en Diagnostic génomique des maladies rares, INSERM 1231, Université de Bourgogne-franch-comté, CHU Dijon, Dijon, France
6. Fédération Hospitalo-Universitaire Médecine Translationnelle et Anomalies du Développement (FHU TRANSLAD, CHU Dijon Bourgogne et Université de Bourgogne-Franche Comté, Dijon, France
7. Child Health and Human Development Program, Research Institute of the McGill University Health Centre, Montréal, Canada
8. Department of Human Genetics, Faculty of Medicine, McGill University, Montréal, Canada
9. Equipe Génétique des Anomalies du Développement, Unité fonctionnelle d'Innovation en Diagnostic génomique des maladies rares, INSERM UMR1231, Université de Bourgogne-Franche Comté, Dijon, France
10. Equipe Génétique des Anomalies du Développement, Unité fonctionnelle d'Innovation en Diagnostic génomique des maladies rares, INSERM UMR1231, Université de bourgogne franche comté, CHU dijon, Dijon, France
11. Equipe Génétique des Anomalies du Développement, Unité fonctionnelle d'Innovation en Diagnostic génomique des maladies rares, INSERM 1231, Université de Bourgogne, CHU Dijon, Dijon, France
12. 3. Centre de référence « Déficiences intellectuelles », Centre de Génétique, Hôpital d'Enfants, CHU Dijon Bourgogne, Dijon, France
13. Equipe Génétique des Anomalies du Développement, 2. Centre de référence «Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs», Centre de Génétique, Hôpital d'Enfants, INSERM 1231, Université de Bourgogne, CHU, Dijon, France
14. centre de reference MAGEC Dijon Mosaïque, service de dermatologie, CHU Dijon Bourgogne, Dijon, France

Mots clefs : mosaïque cutanée, mutation post-zygotique, SHD

Résumé :

Des mutations post-zygotiques à l'origine d'anomalies du développement avec atteinte cutanée en mosaïque ont été caractérisées par séquençage haut débit (NGS) qui permet la détection de faibles taux de cellules mutées. Elles concernent surtout les gènes des voies RAS-MAPK et PI3K-AKT-MTOR.
Nous avons colligé dans la cohorte M.U.S.T.A.R.D. (Mosaic Undiagnosed Skin Traits And Related Disorders) des prélèvements de 702 patients atteints d'anomalies sporadiques du développement cutané en mosaïque, soit 1945 échantillons d'ADN (dont 636 de peau et 1050 de sang). Ils ont été analysés sur plateforme bio-informatique comportant un pipeline dédié à la recherche de mutations post-zygotiques par NGS ciblé à très grande profondeur (1000-5000X) sur séquenceur MiSeq (Illumina). Il permet la détection de faibles taux de mosaïcisme en tissu atteint (1% des allèles) sur les principaux gènes impliqués : *AKT1, PIK3CA, MTOR, GNA11, GNAQ, HRAS, KRAS, NRAS, KRT1, KRT10, TEK, FGFR1, FGFR2 et FGFR3*). Le choix des gènes étudiés a été déterminé pour chaque patient sur l'expertise clinique du phénotype (hypertrophie, atteinte épidermique, pigmentaire, vasculaire,). En l'absence de gène candidat sur le phénotype (35 cas) ou en cas de négativité du séquençage ciblé (38 cas), nous avons effectué un séquençage d'exome (WES) en profondeur (150-200X) à partir de tissu atteint, en paire peau/sang (28 cas) ou en trio (45 cas).
Parmi les 702 patients de la cohorte, 498 (70,9%) ont eu un séquençage ciblé, et 73 (14,8%) un WES, le reste n'ayant pas été testé. Nous avons détecté des mutations post-zygotiques pathogènes chez 304 patients (53,2%) : 272 par NGS ciblé (54,6%) et 21 par WES (28.8%). Ces mutations concernaient principalement *PIK3CA* (61%) dans les syndromes hypertrophiques CLOVES ou MCAP, *GNAQ* et *GNA11* (8% et 5 %) dans des angiomes plans syndromiques, et *KRAS* et *HRAS* (2.3 et 2.6%) dans des nævus épidermiques syndromiques. D'autre part, 94.4% des diagnostics positifs ont été obtenus après une seule analyse portant sur 1 à 4 gènes candidats. Le WES nous a de plus permis d'impliquer 5 nouveaux gènes dans des affections en mosaïque.
Nos résultats montrent l'intérêt du NGS pour la caractérisation des anomalies cutanées du développement en mosaïque, dont nous sommes le seul centre en France à proposer le diagnostic moléculaire. La forte rentabilité du NGS ciblé souligne l'importance d'un phénotypage rigoureux a priori. Le WES a une rentabilité diagnostique analogue dans les mosaïques et dans d'autres anomalies sporadiques du développement. L'identification de la mutation peut modifier la prise en charge clinique lorsqu'il existe une thérapeutique ciblée (inhibiteurs de MTOR par exemple). La négativité du NGS ciblée peut être due à un

mauvais choix du candidat par analyse phénotypique insuffisante, un mauvais site de prélèvement tissulaire, ou à une anomalie génétique encore non déterminée.

Carmignac et al assises 2017 cohorte mosaique.docx

P522 : Séquençage d'exomes d'une cohorte de patients avec suspicion de maladie mitochondriale.

Auteurs :

Samira Ait-El-Mkadem Saadi (1, 2), Annabelle Chaussenot (1, 2), Sylvie Bannwarth (1, 2), Konstantina Fragaki (3, 2), Cécile Rouzier (3, 2), Gaëlle Augé (1, 2), Mathieu Berthet (1), Christelle Camuso (1), Bernadette Chafino (1), Charlotte Cochaud (1), Sandra Foustoul (1), Véronique Paquis-Flucklinger (1, 2)

1. Service de Génétique Médicale, Centre de référence des maladies mitochondriales, CHU de Nice, Nice, France
2. Equipe de génétique des maladies mitochondriales, Université Côte d'Azur, CNRS, INSERM, IRCAN, Nice, France
3. Service de Génétique Médicale, Centre de référence des maladies mitochondriales , CHU de Nice, Nice, France

Mots clefs : Maladie mitochondriale, Exome, WES

Résumé :

Nous rapportons les résultats du séquençage d'exomes (WES) d'une cohorte de 53 familles (91 sujets) adressées à notre laboratoire suite à une suspicion de maladie mitochondriale. Le phénotype est variable avec des symptômes ayant débuté dans l'enfance ou à l'âge adulte. Les explorations ont montré un déficit de la chaîne respiratoire (CR) et/ou une instabilité de l'ADN mitochondrial (ADNmt) et/ou des anomalies histologiques. Aucune mutation n'a été retrouvée dans l'ADNmt, ni dans les gènes nucléaires candidats. A ce jour, le WES nous a permis d'identifier les gènes responsables pour ~40% des familles. Ainsi, 26 variants ont été identifiés dans 21 gènes différents. Parmi ces variants, 3 sont *de novo*, en accord avec la littérature récente révélant le rôle sous-estimé des mutations *de novo* dans les maladies mitochondriales. Parmi les gènes, *CHCHD10* et *MDH2* représentent un intérêt particulier. Pour *CHCHD10*, nous avons apporté pour la première fois la preuve génétique d'une origine mitochondriale pour les phénotypes SLA/DFT à travers l'identification d'un variant dans ce gène chez une famille présentant un phénotype complexe avec des troubles cognitifs de type DFT, une atteinte du motoneurone et/ou une ataxie cérébelleuse, une myopathie mitochondriale et des délétions multiples de l'ADNmt (*Bannwarth et al. 2014*). Rapidement après, le spectre clinique s'est élargi de la SLA-DFT à la SLA pure familiale ou sporadique ou le SMAJ, une forme modérée d'atteinte du motoneurone. Pour *MDH2*, codant la malate déshydrogénase mitochondriale, nous avons décrit une nouvelle forme d'encéphalopathie infantile *EIEE51* (*OMIM #617339*) due à des mutations dans ce gène (*Ait-El-Mkadem et al. 2017*). Pour d'autres gènes, décrits comme étant responsables d'une pathologie comparable à celle de nos patients, le lien avec le dysfonctionnement mitochondrial reste à prouver. Pour *SIAT9* codant la GM3 synthase, nous avons apporté la preuve de ce lien en montrant que le déficit de la CR est secondaire au déficit en cette enzyme et à l'accumulation des globosides Gb3 et Gb4 (*Fragaki et al. 2013*). Chez d'autres patients, nous avons été confrontés à plusieurs difficultés, notamment la coexistence de deux pathologies au sein d'une même famille voire chez un seul individu, avec 2 gènes responsables, chacun pouvant expliquer une partie du tableau clinique ; une grande hétérogénéité clinique intrafamiliale ou encore l'identification de pathologies mimant une maladie mitochondriale (eg. gènes de myasthénie). En conclusion, nos analyses confirment la grande hétérogénéité génétique des maladies mitochondriales et que le WES représente une approche puissante pour identifier de nouveaux gènes responsables de ces maladies. Grâce à l'identification du gène responsable, plusieurs familles ont pu bénéficier d'un conseil génétique et une meilleure prise en charge. Un essai clinique est en cours et 13 familles sont potentiellement concernées par un DPN, 4 ont déjà été réalisés.

P523 : Etude génomique et fonctionnelle des érythrocytoses héréditaires et pathologies associées

Auteurs :

Marion Lenglet (1), Betty Gardie (1), Florence Robriquet (2), Mathilde Pacault (3), Fabrice Airaud (3), Céline Garrec (3), Sébastien Corbineau (2), Pierre Lindenbaum (4), Thomas Besnard (3), Yannick Arlot-Bonnemains (5), Amandine Caillaud (4), Karim Si-Tayeb (4), Richard Redon (4), Stéphane Bezieau (3), Stéphane Richard (6), Anne-Paule Gimenez-Roqueplo (7), Holger Cario (8), François Girodon (9)

1. EPHE, Institut de Recherche pour la Santé, Nantes, France
2. CRCINA, INSERM, Université de Nantes, Nantes, France, Institut de Recherche pour la Santé, Nantes, France
3. Service de Génétique Médicale, CHU de Nantes, Nantes, France
4. L'institut du thorax, INSERM, CNRS, UNIV Nantes, Nantes, France, Institut de Recherche pour la Santé, Nantes, France
5. CNRS–UMR 6290- BIOSIT Université Rennes 1, Université de Rennes, Rennes, France
6. EPHE, Réseau National pour Cancers Rares de l'Adulte "PREDIR" , Kremlin Bicêtre, France
7. Service de Génétique, Assistance-Publique Hôpitaux de Paris, Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris, France
8. Department of Pediatrics and Adolescent Medicine, University Medical Center Ulm, Ulm, Allemagne
9. Service d'hématologie Biologique, CHU Dijon, Dijon, France

Mots clefs : Polyglobulie, hypoxie, érythropoièse, panel NGS, anomalies d'épissage, iPS

Résumé :

Introduction
Le projet a pour objectif d'identifier les mutations constitutionnelles responsables d'érythrocytose (ou polyglobulies) héréditaire (EH), maladie hématologique rare caractérisée par une production excessive de globules rouges qui peut être associée à de nombreuses complications (thromboses, hypertension artérielle pulmonaire, développement de tumeurs de type paragangliome/phéochromocytome). Les 8 gènes retrouvés mutés à ce jour *(VHL, PHD2, HIF2A, EPO-R, HB-A1-A2-B, BPGM)* sont impliqués dans des voies biologiques majeures activées dans de nombreuses autres pathologies (hypoxie et surproduction d'érythropoiétine (EPO), voie de signalisation des progéniteurs érythroïdes, métabolisme des globules rouges). Sachant que 80% des cas restent sans cause génétique connue, nous avons mis en place un recrutement national de patients atteints d'EH avec un criblage moléculaire par séquençage haut débit (panel de 28 gènes candidats, Sophia Genetics) associé à des études de validation fonctionnelle des variants identifiés (tests rapporteurs, minigènes, modélisation de la pathologie *in cellulo* à partir de cellules hiPS -human induced pluripotent stem cells- de patients).

Résultats
A ce jour, 170 échantillons de patients ont été collectés et le criblage moléculaire a été réalisé chez 90 d'entre eux. Nous avons identifié des variations génétiques potentiellement en lien avec la pathologie chez 21 patients dans les gènes *VHL, PHD1-2, HIF1-2-3A, EPO, LNK* et *JAK2*.
L'étude fonctionnelle des variants identifiés dans les gènes de la voie de l'hypoxie (PHD/HIF) a mis en évidence une grande variabilité de perte ou gain de fonction, indépendamment de la sévérité des signes cliniques. Le rôle de polymorphismes rares associés à ces variants est en cours d'étude.
En parallèle, le séquençage ciblé de régions introniques de deux gènes candidats a permis d'identifier des variants chez 7 patients supplémentaires. L'étude de minigènes a mis en évidence, chez ces patients, une altération de l'épissage avec inclusion d'exon cryptique ou saut d'exon.
La mise en place de modèles cellulaires capables d'exprimer les gènes responsables d'EH (cellules productrices d'EPO et progéniteurs érythroïdes) est en cours d'établissement à partir de cellules hiPS. Ces modèles ont pu être validés à partir d'ihPS de patients porteurs de mutations *VHL.*
Conclusion
Cette étude montre que, malgré le criblage de nombreux gènes candidats, il reste 70% des cas d'EH sans cause connue. Cependant, l'étude de régions introniques a permis de montrer l'existence d'altérations de l'épissage de gènes clefs dans certains cas. Nos recherches s'orientent donc sur l'analyse approfondie des régions introniques, avec un séquençage du génome entier de cas familiaux négatifs lors du diagnostic.
L'utilisation de modèles cellulaires adaptés permettra l'identification des mécanismes moléculaires à l'origine des EH et une meilleure compréhension des voies biologiques impliquées dans la survenue de pathologies associées.

AbstractAssises GénétiquesGardie_091017.pdf

P524 : Rare variant in LAMA2 gene causing congenital muscular dystrophy in a Sudanese family

Auteurs :

Mutaz Amin Mustafa (1), Yousuf Bakhiet (2), Mahmoud Koko (3), Mohamed Osama (2), Mohamed Salih (4), Osheik Seidi (1), Muntaser Ibrahim (3)

1. Faculty of Medicine, University of Khartoum, Khartoum, Soudan
2. Department of Biochemistry, University of Khartoum, Khartoum, Soudan
3. Institute of Endemic Diseases, University of Khartoum, Khartoum, Soudan
4. Bioinformatics, Africa city of Technology, Khartoum, Soudan

Mots clefs : Congenital muscular dystrophy, Sudan, rare variant, exome sequencing

Résumé :

Congenital muscular dystrophies (CMD) are a heterogeneous group of disorders caused by mutations in skeletal muscles proteins. The most common type of CMD in Europe is Merosin-deficient CMD caused by mutations in laminin-α2 protein. Very few studies reported pathogenic variants underlying these disorders especially from Africa. In this study we report a rare variant (rs752485547) in *LAMA2* gene causing a mild form of Merosin-deficient CMD in a Sudanese family. The family consisted of two patients diagnosed clinically with congenital muscular dystrophy since childhood and five healthy siblings born to consanguineous parents. Whole exome sequencing was performed for the two patients and a healthy sibling. A rare missense variant (rs752485547) in *LAMA2* gene (p.Arg148Trp) was discovered and verified using Sanger sequencing. The segregation pattern was consistent with autosomal recessive inheritance. The pathogenicity of this variant was predicted using bioinformatics tools. More studies are needed to explore the whole spectrum of mutations in CMD in patients from Sudan and other parts of the world.

P525 : Variations récessives de B4GALT7 et malformations oculaires : à propos d'un cas familial et revue de la littérature

Auteurs :

Radu HARBUZ (1), Charles COUTTON (1, 2), Françoise DEVILLARD (1), John RENDU (3, 4), Florence AMBLARD (1), Klaus DIETERICH (5, 6), Marie-Ange NGUYEN-MOREL (7), Veronique SATRE (8, 2), Julien THEVENON (5)

1. Département de Génétique et Procréation, Laboratoire de Génétique Chromosomique, CHU Grenoble Alpes, Grenoble, France
2. Institute for Advanced Biosciences, Inserm U 1209, CNRS UMR 5309,, Université Grenoble Alpes, Grenoble, France
3. Biochimie Génétique et Moléculaire, CHU Grenoble Alpes, Grenoble, France
4. Cellular Myology and Pathology, INSERM, U1216, Grenoble Institut of Neurosciences, Université Grenoble Alpes, Grenoble, France
5. Département de Génétique et Procréation, Centre de Référence des Anomalies du Développement,, CHU Grenoble Alpes, Grenoble, France
6. Inserm U836, Grenoble Institut des Neurosciences, Equipe Muscle et Pathologie, , Université Grenoble Alpes, Grenoble, France
7. Pédiatrie, CHU Grenoble Alpes, Grenoble, France
8. Département de Génétique et Procréation, Laboratoire de Génétique Chromosomique, CHU de Grenoble Alpes, Grenoble, France

Mots clefs : Linkeropathies, B4GALT7, exome, retard de croissance, déficience intellectuelle, colobome

Résumé :

Les linkeropathies sont des affections dues à des défauts dans la synthèse des protéoglycanes et sont caractérisées par un retard statural avec des anomalies ostéo-articulaires, une brachycéphalie, des variants morphologiques, des cardiopathies et une déficience intellectuelle modérée.
Nous rapportons le cas d'un couple apparenté, d'origine turque, avec un garçon et une fille présentant un retard staturo-pondéral sévère pré et post natal (poids et taille à -4DS à l'âge de 7 et 5 ans) associé à un aspect progéroïde, une hyperlaxité articulaire, un pli palmaire transverse unique, une plagiocéphalie, un visage triangulaire, un grand front, un hypoplasie malaire, un prognathisme, des agénésies dentaires, une microstomie avec lèvres fines, des oreilles bas implantées et mal ourlées. Le garçon présente une cryptorchidie unilatérale droite et sa sœur une microphtalmie unilatérale droite avec colobome irien et papillaire. Tous deux présentent une déficience intellectuelle.
Le caryotype constitutionnel et l'ACPA sont normaux. L'analyse de l'exome chez les enfants retrouve deux variations hétérozygotes composites du gène *B4GALT7* (c.601G > A p.Gly201Ser et c.689A > G p.Asp230Gly). L'analyse des bases de données permet de les classer en variations pathogènes. Initialement les mutations *B4GALT7* ont été associées avec une forme rare de syndrome d'Ehlers-Danlos de type progéroïde avec une petite taille et des anomalies des membres ou avec le Syndrome de Larsen de la Réunion.
Il a été proposé d'appeler « linkeropathies » des affections partageant le même spectre phénotypique (petite taille, anomalies ostéo-articulaires, oculaires, cardiaques et déficience intellectuelle) et des mutations dans un groupe de gènes (*XYLT1*, *XYLT2*, *B4GALT7*, *B3GALT6* et *B3GAT3*) codant pour des enzymes impliquées dans la synthèse des protéoglycanes.
Cette observation aide à mieux définir le spectre phénotypique associé avec les mutations du gène *B4GALT7* et en particulier les malformations ophtalmologiques de type microphtalmie colobomateuse seulement associées à B4GALT7 parmi les différentes linkeropathies répertoriées.

Harbuz R 06 10 2017.docx

P526 : Données cliniques et moléculaires chez deux patients marocains avec syndrome de schimmelpenning

Auteurs :

Yassamine Doubaj (1, 2), Wiam Smaili (2), Ilham Ratbi (1), Maria Mansouri (2), Abdelali Zrhidri (1), Jaber Lyahyai (1), Nawfal Fejjal (3), Abdelaziz Sefiani (2, 1)

1. Centre de Génomique Humaine, Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rabat, Université Mohammed V, Rabat, Rabat, Maroc
2. Département de Génétique Médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Maroc
3. Service de Chirurgie Plastique Pédiatrique, Hopital d'enfants, CHU Ibn Sina, Université Mohammed V, Rabat, Rabat, Maroc

Mots clefs : Schimmelpenning syndrome, Linear nevus sebaceous syndrome, Moroccan, KRAS gene

Résumé :

Schimmelpenning-Feuerstein-Mims (SFM) syndrome also known as Linear nevus sebaceous syndrome, is a sporadic disease whose prevalence is estimated to 1/10000. Clinically, it's characterized by epidermal nevi, usually following the lines of Blaschko, associated with multiple organ involvement (neurological, ocular, cardiovascular, skeletal and urogenital systems). On the genetic level, the syndrome is caused by an autosomal dominant post-zygotic mutation that survives in one of the RAS family genes (*HRAS* gene on chromosome 11p15, *KRAS* gene on chromosome 12p12, and *NRAS* gene on chromosome 1p13). We report on two Moroccan male infants aged 7 days and six years old respectively, referred to our department for skin abnormalities. Based on clinical and anatomo-pathological findings, the molecular analysis was realized in only one patient on palatal tissue and it leads to the identification of a previously reported c.35G>A (p.Gly12Asp) mutation on the *KRAS* gene. Unfortunately, the fisrt case died at the age of 11 months before performing the skin biopsy.
To the best of our knowledge, this is the first report of Moroccan patients with SFM syndrome. The genetic study allows us to confirm the diagnosis and to establish an appropriate genetic counseling for our families.

Schimmelpennig syndrome YD.docx

P527 - DPC : Usefulness of the genetic risk score to identify phenocopies in families with Familial Hypercholesterolemia?

Auteurs :

Youmna Ghaleb (1), Sandy Elbitar (1), Petra El khoury (2), Eric Bruckert (3), Valérie Carreau (3), Alain Carrié (4), Philippe Moulin (5), Mathilde Di Filippo (6), Sybil Charriere (5), Harout Iliozer (6), Michel Farnier (7), Gérald Luc (8), Jean-Pierre Rabès (9), 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. Department of Endocrinology and Cardiovascular Disease Prevention, La Pitié-Salpêtrière Hospital, Paris, France
4. Department of Biochemistry, La Pitié-Salpêtrière Hospital, Paris, France
5. Department of Endocrinology, nutrition and metabolic diseases, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
6. Department of Biochemistry and Molecular Biology, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
7. Department of Cardiology and Point Médical, CHU Dijon Bourgogne, Dijon, France
8. Faculty of Pharmacy, Department of Internal Medicine, University Hospital, Lille, France
9. Laboratoire de Biochimie et de Génétique Moléculaire, Hôpital Ambroise-Paré, BOULOGNE BILLANCOURT, France

Mots clefs : Familial hypercholesterolemia (FH), Polygenic hypercholesterolemia, Phenocopies, Genetic Risk score (GRS)

Résumé :

Familial Hypercholesterolemia (FH) is caused by mutations in *LDLR*, *APOB, PCSK9* or *APOE* gene in approximately 80% of the cases. Polygenic forms of hypercholesterolemia may be present among patients clinically diagnosed with FH but with no identified mutation (FH/M-). To address whether polygenic forms may explain phenocopies in FH families, we calculated a 6-SNP genetic risk score (GRS) in all members from five French FH families where a mutation was identified (FH/M+) as well as some phenocopies (FH/M-).
In two families, 3 FH/M- patients present a high GRS suggesting a polygenic hypercholesterolemia for these phenocopies. However, a high GRS is also observed in 9 FH/M+ patients and in 4 unaffected relatives from 3 families. These observations indicate that the GRS does not seem to be a good diagnostic tool at the individual level. Nevertheless, the GRS seems to be a contributor of the severity of hypercholesterolemia since patients who cumulate a mutation and a high GRS exhibit higher LDL-C levels when compared to patients with only FH ($p = 0.0537$) or only polygenic hypercholesterolemia ($p = 0.0038$).
In conclusion, the GRS can be used as a marker of the severity of hypercholesterolemia but cannot be used to distinguish phenocopies within FH families.

P528 : Déficit en CPT2 par disomie uniparentale d'origine maternelle

Auteurs :

Pauline GAIGNARD (1), Pierre-Hadrien BECKER (1), Elise LEBIGOT (1), Leila DRIRA (1), Pascale DE LONLAY (2), Anne-Sophie GUEMANN (2), Sophie RONDEAU (3), Patrice THEROND (1), Jean-Paul BONNEFONT (3), Audrey BOUTRON (1)

1. Service de Biochimie, CHU Bicêtre, AP-HP, Le Kremlin-Bicêtre, France
2. CMR Maladies Métaboliques, CHU Necker Enfants Malades, AP-HP, Paris, France
3. Laboratoire de génétique moléculaire, CHU Necker Enfants Malades, AP-HP, Paris, France

Mots clefs : Béta-oxydation, carnitine, CPT2, disomie

Résumé :

La carnitine palmitoyltransférase de type II (CPT2), en association avec la CPT1 et la translocase, assure l'import dans la matrice mitochondriale des acides gras à chaînes longues (AGCL) sous forme d'acyl-CoA, première étape de la beta- oxydation des AGCL. Le déficit en CPT2 est une maladie autosomique récessive rare qui peut se présenter sous une forme myopathique, forme la moins sévère et caractérisée par des épisodes récurrents de rhabdomyolyse, des douleurs musculaires et une fatigue ; sous une forme infantile caractérisée par une intolérance sévère au jeûne entraînant des troubles métaboliques tels qu'une hypoglycémie avec hypocétonémie et atteintes hépatique, cardiaque et musculaire ; sous une forme néonatale pouvant être fatale avec une défaillance multi-viscérale. Les circonstances favorisantes à l'origine de la décompensation sont : le jeûne prolongé, une infection intercurrente, l'exposition à des températures extrêmes.
Nous présentons le cas d'un patient né de parents non apparentés et décédé en période néonatale suite à des décompensations hypoglycémiques compliquées d'arrêts cardio-respiratoires. L'augmentation majeure des acylcarnitines à chaîne longue C16 et C18:1 sur le profil des acylcarnitines plasmatiques a rapidement permis d'orienter le diagnostic vers un déficit d'import des chaînes longues : déficit en CPT2 (gène *CPT2*) ou en translocase (gène *SLC25A20*). Le séquençage par technique Sanger a révélé une mutation homozygote du gène *CPT2* (c.534_558delinsT, p.Leu178_Ile186delinsPhe). Cette mutation a été retrouvée à l'état hétérozygote chez la mère mais pas chez le père, bien que la paternité ait été confirmée par analyse de microsatellites. La PCR quantitative de l'exon 4 muté a confirmé la présence de deux allèles mutés chez l'enfant, d'un allèle muté chez la mère mais d'aucun chez le père, ce qui laissait supposer une disomie uniparentale d'origine maternelle. L'analyse des marqueurs microsatellites sur le locus du gène *CPT2* (1p32.3) ainsi que sur d'autres régions du chromosome 1 a confirmé l'absence de contribution paternelle au profil allélique.
Il s'agit du premier cas rapporté de disomie uniparentale dans un déficit en CPT2. Cette situation est exceptionnelle dans les maladies rares du métabolisme à transmission récessive mais ce cas souligne l'absolue nécessité de contrôler la ségrégation allélique dans les cas d'homozygotie afin de déterminer précisément le risque de récidive dans la fratrie.

P529 - DPC : Séquençage d'exome chez 200 patients atteints de Cardiomyopathie Hypertrophique : hétérogénéité génétique extrême et mécanisme oligogénique ?

Auteurs :

Karine Nguyen (1), Stephane Roche (2), Cecile Lavoute (3), Julie Haentjens (4), Emilie Consolino (5), Erwan Donal (6), Sylvie Odent (7), Jean-Christophe Eicher (8), Laurence Faivre (9), Patricia Reant (10), Caroline Rooryck Thambo (11), Philippe Charron (12), Frederique Magdinier (13), Nicolas Levy (1), Anne Claire Casalta (4), Nicolas Michel (4), Jean-Pierre Desvignes (13), Christophe Béroud (13), Gilbert Habib (4)

1. INSERM GMGF UMR S_910, Aix Marseille Université, Marseille, France
2. GMGF INSERM UMR 910, Faculté de médecine de Marseille, Marseille, France
3. service de cardiologie, centre de compétences des cardiomyopathies, CHU Timone adultes, marseille , France
4. service de cardiologie, centre de compétences des cardiomyopathies, CHU Timone adultes, marseille, France
5. département de Génétique Médicale, CHU Timone enfants, marseille, France
6. service de cardiologie adultes, CHU de Rennes, Rennes, France
7. service de génétique médicale, CHU de Rennes, Rennes, France
8. service de cardiologie adultes, CHU de Dijon, dijon, France
9. service de génétique médicale, CHU de Dijon, Dijon, France
10. service de cardiologie adultes, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France
11. service de génétique médicale, CHU de Bordeaux, bordeaux, France
12. service de cardiologie adultes, centre de référence des cardiomyopathies, CHU Pitié-Salpétrière, Paris, France
13. GMGF INSERM UMR 910, Faculté de médecine de Marseille, marseille, France

Mots clefs : Cardiomyopathie hypertrophique, Exome, NGS, Maladie de Fabry, Amylose à Transthyrétine

Résumé :

La Cardiomyopathie Hypertrophique (CMH) est une maladie cardiaque héréditaire fréquente (1/500), à risque vital et dont on peut prévenir le risque majeur: la mort subite du sujet jeune. La CMH est connue pour être causée principalement par une mutation dans l'un des 5 gènes majeurs du sarcomère cardiaque (MYBPC3, MYH7, TNNT2, MYL2, TNNI3). L'analyse moléculaire de ces 5 gènes ne permet actuellement d'identifier une mutation que dans environ 50% des familles, ce qui est insuffisant pour proposer un conseil génétique et une surveillance des sujets à risque basée sur un diagnostic moléculaire prédictif.
Nous avons analysé par séquençage d'exome une série de 200 nouveaux patients non apparentés atteints de CMH primitive par la technologie Agilent SureSelect V6 sur Illumina Hiseq 2500. Le recrutement des patients a eu lieu entre juin 2015 et octobre 2016 dans 5 centres français : Marseille, Rennes, Dijon, Bordeaux et Paris.
Après analyse bio-informatique, consultation des bases de données et élimination des variants considérés comme polymorphismes non pathogènes, un nombre total de 627 variants prédits comme pathogènes a été retenu. Dans un premier temps, l'analyse d'un panel de 145 gènes impliqués dans des maladies cardiaques héréditaires variées a permis :

- D'identifier 1 seule mutation chez 27 patients (13.5% des cas).
- De montrer la présence de variants multiples, avec de 2 à 8 mutations chez 159 patients (79.5%), majoritairement de 2 à 3 mutations.
- D'identifier une mutation déjà rapportée dans la CMH chez 38% des patients.
- De relativiser la fréquence des 5 gènes dits majeurs dans la CMH, 72 patients (36%) seulement ont une mutation dans l'un des 5 gènes, aucun patient n'a de mutation dans TNNI3.
- D'impliquer certains gènes d'arythmies cardiaques non connus jusque-là dans la CMH chez 22 patients (11%).
- De poser le diagnostic d'affections curables comme la maladie de Fabry chez 1 patient et l'amylose à Transthyrétine chez 1 patient.

Chez 15 patients (7.5%), aucune mutation n'a été identifiée dans ce premier panel de 145 gènes et l'analyse de l'exome est en cours.
Le séquençage d'exome a permis l'augmentation du rendement diagnostique avec 92.5% des patients mutés dans cette étude en analysant un panel de 145 gènes impliqués dans les maladies cardiaques héréditaires ou des maladies systémiques avec atteinte cardiaque. De plus, l'hétérogénéité génétique est plus large que prévue avec l'implication de gènes inattendus dans la CMH. Il est important de noter que cette analyse génétique large a permis chez 2 patients de poser le diagnostic d'une affection non systématiquement recherchée en routine diagnostique devant un phénotype de CMH isolée, et pour laquelle il y a une implication thérapeutique (maladie de Fabry et amylose héréditaire).
Enfin, le modèle monogénique impliquant une mutation dans un seul gène n'est pas le mécanisme majoritaire dans notre cohorte de patients atteints de CMH.

P530 : Mutations en mosaïque du gène NLRP3 responsables de cryopyrinopathies

Auteurs :

Camille Louvrier (1, 2), Eman Assrawi (1), Claire Jumeau (1), Laetitia Cobret (1), Bruno Copin (2), Philippe Duquesnoy (1), William Piterboth (2), Sophie Georgin-Lavialle (1, 3), Jean-David Bouaziz (4), Gilles Grateau (1, 3), Marie Legendre (2), Sonia-Athina Karabina (1), Serge Amselem (1, 2), Irina Giurgea (1, 2)

1. Sorbonne Universités, UMRS_933 Inserm/UMPC Univ Paris 06, DHU I2B, Hôpital Trousseau, Paris, France
2. U.F. de Génétique moléculaire (Assistance Publique-Hôpitaux de Paris), DHU I2B, Hôpital Trousseau, Paris, France
3. Centre de référence de la fièvre méditerranéenne familiale, DHU I2B, Service de médecine interne (Assistance Publique-Hôpitaux de Paris), Hôpital Tenon, Paris, France
4. Service de Dermatologie (Assistance Publique-Hôpitaux de Paris), Hôpital Saint-Louis, Paris, France

Mots clefs : mosaïcisme somatique,NGS,Syndrome auto-inflammatoire,NLRP3

Résumé :

Les fièvres récurrentes héréditaires sont des maladies auto-inflammatoires (MAI) rares transmises selon un mode mendélien. Plusieurs gènes sont impliqués, dont le gène *NLRP3* qui code pour un composant essentiel de l'inflammasome NLRP3, élément clé de l'immunité innée. Les mutations gain de fonction de *NLRP3* sont responsables de cryopyrinopathies dont la prévalence est estimée en France à 1/360 000 individus. Les cryopyrinopathies sont des maladies qui s'expriment selon un mode autosomique dominant, elles comprennent trois entités cliniques distinctes, de sévérité croissante : i) l'urticaire familial au froid, ii) le syndrome de Muckle Wells (MWS) associant notamment une urticaire, une surdité neurosensorielle avec un risque d'amylose secondaire, et iii) le syndrome CINCA (*chronic infantile neurologic, cutaneous, articular syndrome)* à début néonatal, qui associe des signes cutanés, articulaires et neurologiques d'évolution chronique. Ces dernières années, et avec l'avènement du séquençage nouvelle génération (NGS), une trentaine de patients présentant des mutations somatiques en mosaïque ont été rapportés dans la littérature.
L'étude de l'ADN leucocytaire de 100 patients présentant des signes cliniques de MAI, par séquençage NGS d'un panel de gènes impliqués dans les MAI, nous a permis d'identifier 3 individus présentant une mutation en mosaïque du gène *NLRP3* : c.1705G > A, p.(Glu569Lys) (patients 1 et 2) et c.926_934del, p.(Gly309_Phe311del) (patient 3) avec un pourcentage d'allèle muté estimé respectivement à 6, 11 et 20%. Les 3 patients présentaient une urticaire associée à des arthralgies fébriles, un syndrome inflammatoire biologique. Les patients 1 et 2 présentaient une surdité. L'âge d'apparition de la maladie était précoce pour la patiente 1 avec la survenue d'éruptions cutanées dès la petite enfance tandis que pour les deux autres patients, l'âge d'apparition était plus tardif, respectivement 45 et 49 ans.
La mutation p.(Glu569Lys) a déjà été décrite dans la littérature à l'état mosaïque chez six individus et son caractère pathogène a été démontré *in vitro.* La mutation p.(Gly309_Phe311del) n'a jamais été décrite et des études fonctionnelles sont en cours afin de démontrer son caractère pathogène. Afin de déterminer la distribution tissulaire de ces mutations en mosaïque, une analyse moléculaire de différents tissus est envisagée.
En conclusion, l'identification de mutations somatiques en mosaïque du gène *NLRP3* démontre l'importance d'étudier *NLRP3* par séquençage NGS en cas de forte suspicion clinique de cryopyrinopathie. Ce travail a permis d'identifier une nouvelle mutation de *NLRP3* dont l'anomalie moléculaire, une délétion en phase de trois acides aminés, est très atypique pour une maladie dont les défauts moléculaires sont des mutations gain de fonction.

P531 - DPC : Enrichissement en variants rares dans les gènes LMCD1 et PREX2 dans le prolapsus valvulaire mitral isolé

Auteurs :

Simon LECOINTE (1), Antoine RIMBERT (1), Nabila BOUATIA-NAJI (2, 3), Florence KYNDT (1), Marie MARREC (4), Matilde KARAKACHOFF (1), Christian DINA (1), Pierre LINDENBAUM (1), Thierry LE TOURNEAU (1), Xavier JEUNEMAITRE (2, 3), Richard REDON (1), Jean MEROT (1), Jean-Jacques SCHOTT (1), Solena LE SCOUARNEC (1)

1. l'institut du thorax, INSERM, CNRS, UNIV Nantes, CHU Nantes, Nantes, France, l'institut du thorax, INSERM, CNRS, UNIV Nantes, CHU Nantes, Nantes, France, Nantes, France
2. INSERM UMR 970, Paris Cardiovascular Research Center, Paris, France. Paris Descartes University, Paris Sorbonne Cité, Paris, France, INSERM UMR 970, Paris Cardiovascular Research Center, Paris, France. Paris Descartes University, Paris Sorbonne Cité, Paris, France, Paris, France
3. AP-HP, Department of Genetics, Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris, France, AP-HP, Department of Genetics, Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris, France, Paris, France
4. l'institut du thorax, INSERM, CNRS, UNIV Nantes, CHU Nantes, Nantes, France, l'institut du thorax, INSERM, CNRS, UNIV Nantes, CHU Nantes, Nantes, France, Nan, France

Mots clefs : Valvulopathie, mitral, prolapsus, LMCD1, PREX2, NGS, HaloPlex

Résumé :

Le prolapsus valvulaire mitral (PVM) touche 2-3% de la population. Les valvulopathies à dégénérescence myxoïde forment un groupe complexe de maladies présentant une atteinte valvulaire commune caractérisée par un épaississement valvulaire. A ce jour deux gènes ont été associés à des formes familiales de PVM non syndromiques : *FLNA* (Kyndt *et al*, 2007) et *DCHS1* (Durst *et al*, 2015). Par ailleurs 6 loci ont été associés au PVM isolé par étude d'association génome entier (Dina *et al*, 2015). Des études fonctionnelles menées pour deux gènes de ces loci, *TNS1* et *LMCD1,* ont montré une augmentation significative du taux de régurgitation valvulaire chez les poissons zèbres et la souris.
Le développement de stratégies basées sur les technologies de séquençage haut-débit nous donne une opportunité unique de détecter les gènes présentant un enrichissement significatif en variants rares dans une population d'individus atteints de PVM, par rapport à une population contrôle.
Nous avons réalisé le séquençage de 520 patients atteints de PVM à l'aide d'un système de capture HaloPlex™ (Agilent Technologies) dédié au séquençage des régions codantes de 78 gènes précédemment associés au PVM ou candidats. Les librairies enrichies par le système HaloPlex™ ont été séquencées sur station Illumina HiSeq. Les reads ont été alignés sur le génome de référence GRCh37 avec BWA-MEM puis les variations génétiques ont été détectées avec GATK HapCaller et annotées automatiquement avec VEP.
Pour chacun des 78 gènes criblés, la proportion en variants rares (<0.5% dans ExAC) chez les 520 patients a été comparée aux données de 540 individus séquencés dans le cadre du French Exome Project. L'analyse statistique a été réalisée avec le test d'enrichissement CAST (« Cohort Allelic Sums Test »).
Le test d'enrichissement a permis de détecter deux gènes significativement associés au PVM : *PREX2* (p=0,006, OR=4,95 pour le transcrit NM_025170) et *LMCD1* (p=0,001, OR=12,71 pour le transcrit NM_001278233).
Le gène *PREX2* code pour une protéine GEF intervenant dans la régulation de l'activité de Rac1. Des mutations dans le gène *PREX2* pourraient provoquer un défaut de remodelage du cytosquelette d'actine, impliquant la même voie que les mutations du gène *FLNA*.
Le second gène *LMCD1* code pour la protéine dyxine, fortement exprimée dans le tissu cardiaque. Ce gène candidat issu de l'étude d'association génome entier est un répresseur direct du facteur de transcription Gata6, impliqué dans le développement cardiaque (Rath *et al*, 2005).
L'identification d'un enrichissement en variants rares dans ces deux gènes souligne le rôle central de la voie Rho/Rac et du développement cardiaque dans le PVM. Des investigations fonctionnelles sont en cours pour ces deux gènes. Afin de décrypter si d'autres voies de signalisation sont impliquées et permettre de mieux comprendre la physiopathologie du PVM, nous envisageons d'appliquer la même approche à l'échelle du génome entier.

abstract assises genetique 2018_JJ_SLS_SL_08102017.doc

P532 : Syndrome de Hamamy : description d'une troisième famille et d'une nouvelle mutation dans IRX5 dans ce syndrome rarissime.

Auteurs :

Andre MEGARBANE (1, 2), Eliane CHOUERY-KHOURY (3), Nada MCHEILEH (4), Hala MEGARBANE (5), Christel CASTRO (6), Nathalie ROECKEL-TREVISIOL (7), Gretta ABOU SLEIMANE (8), Joyce TANNOUS (4), Mikael DAVID (2), Samantha STORA (2), Valérie DELAGUE (9)

1. CEMEDIPP, Centre médical et psychopédagogique, Beyrouth, Liban
2. Institut Jérome Lejeune, Institut Jérome Lejeune, Paris, France
3. Unité de Génétique Médicale, Université Saint-Joseph, Beyrouth, Liban
4. Département de pédodontie, Université Saint-Joseph, Beyrouth, Liban
5. Département de dermatologie, Hopital Saint-Georges, Université de Balamand, Beyrouth, Liban
6. GMGF, UMR_S 910, Aix Marseille Univ, Inserm, Marseille, France
7. GMGF, UMR_S 910, Aix Marseille Univ, Inserm, MARSEILLE, France
8. Department of Genetics, American University for Science and Technology, Beyrouth, Liban
9. GMGF, UMR_S 910, Aix Marseille Université, Inserm, marseille, France

Mots clefs : hamamy, syndrome, IRX5, mutation, récessif

Résumé :

Le syndrome de Hamamy (MIM 611174) est un syndrome cranio-facial autosomique récessif rarissime, décrit pour la première fois en 2007 par Hamamy et al. chez 2 frères d'origine jordanienne issus d'une union consanguine. Les patients atteints de ce syndrome présentent une dysmorphie faciale incluant un hypertélorisme sévère, une brachycéphalie, des oreilles proéminentes, une myopie, une déficience intellectuelle modérée, une surdité sensorielle, des anomalies de l'émail dentaire, et une ostéopénie, résultant en une grande fragilité osseuse. A l'heure actuelle, 5 cas, issus de deux familles sont décrites pour ce syndrome, incluant les 2 cas jordaniens initialement décrits par Hamamy en 2007. Tous les patients décrits avec ce syndrome présentent des mutations bialléliques dans le gène *IRX5*, qui code pour un facteur de transcription de la famille des facteurs de transcription à homédomaine Iroquois (Iro). Cette famille de facteurs de transcription est impliquée dans la formation des membres et du squelette, au travers de la régulation spatio-temporelle de leurs gènes cibles.
Dans cette étude, nous décrivons la troisième famille atteinte du syndrome de Hamamy. Dans cette famille consanguine, nous décrivons deux cas (frère et sœur) présentant des signes cliniques évocateurs du syndrome de Hamamy. Un séquençage à haut-débit de l'exome réalisé chez les deux individus atteints et leur mère hétérozygote obligatoire, a permis d'identifier une nouvelle variation faux-sens homozygote dans le gène *IRX5* : la variation c.503G > A (p.Arg168His). La variation touche un acide aminé très conservé dans la famille Iro et au cours de l'évolution. De plus, elle est située dans le domaine homédomaine, au sein duquel les deux autres mutations décrites à ce jour sont retrouvées, et notamment à proximité immédiate d'une de ces mutations (p.Asn166Lys). Nous discutons les similarités entre la présentation clinique de nos cas et ceux décrits dans la littérature, ainsi que de la très probable pathogénicité du nouveau variant identifié dans *IRX5*, qui ségrége dans cette famille.
Cette étude rapporte la troisième mutation dans le gène IRX5 et la troisième famille atteinte du syndrome de Hamamy.

P533 - DPC : Exploration moléculaire du gène SCN5a chez des patients atteints du Syndrome de Brugada dans le centre Tunisien

Auteurs :

Hajer FODDHA (1), Houria DAIMI (1), Abdelhak FODDHA (2), Nadia LEBAN (1), Moez GRIBAA (3), Faouzi MAATOUK (4), Habib GAMRA (5), Ali SAAD (3), Amelia E ARANEGA (6), Jemni BEN CHIBANI (1), Diego FRANCO (6), Amel HAJ KHELIL (1)

1. Laboratoire de Biochimie et Biologie Moléculaire, Faculté de Pharmacie, Université de Monastir, Monastir, Tunisie
2. Service de Cardiologie A, CHU Fattouma Bourguiba Monastir , Monastir, Tunisie
3. Service de Cytogénétique, génétique moléculaire et biologie de la reproduction, CHU Farhat Hached, Sousse, Sousse, Tunisie
4. Service de Cardiologie B, CHU Fattouma Bourguiba, Monastir, Monastir, Tunisie
5. Service de Cardiologie A, CHU Fattouma Bourguiba, Monastir, Monastir, Tunisie
6. Département de Biologie Expérimentale, Université de Jaén, Jaén, Espagne

Mots clefs : Syndrome de Brugada, SCN5a, Séquençage, Mutation, Polymorphismes

Résumé :

Le Syndrome de Brugada est défini comme étant une maladie cardiaque associée à un risque élevé de syncope et de mort subite. Dans environ 1 cas sur 5, ce syndrome est provoqué par des mutations sur le gène SCN5a codant la sous-unité alpha du canal sodique cardiaque.
Notre étude consiste en une analyse mutationnelle chez 3 patients Tunisiens dont le diagnostic clinique, notamment l'ECG, a montré le profil du Syndrome de Brugada. La recherche de mutation s'est faite par séquençage direct des 27 exons du gène SCN5a ainsi que la région 3'UTR.
Nous avons trouvé 11 polymorphismes dont 7 exoniques et 4 dans la région 3'UTR. Parmi les SNP exoniques, certains sont commun dans le Syndrome de Brugada (A29A, E1061E, H558R et D1819D), d'autres sont mineurs (I239I et I529I). Ces polymorphismes sont bénins mais décrits dans les troubles du rythme cardiaque. Au niveau de l'exon 4, nous avons trouvé le polymorphisme non synonyme E161K qui a été déjà décrit à effet pathogène chez deux familles ayant des troubles de conduction y compris le Syndrome de Brugada. Les polymorphismes dans la zone 3'UTR sont : rs7429945, rs4073797, rs4073796 et rs41315485. Ces polymorphismes peuvent jouer un rôle important dans la création ou l'abolition d'un site de fixation des micro-ARN et influencer par la suite le niveau d'expression du gène SCN5A.
Ces résultats ont besoin d'être renforcés par une étude fonctionnelle et une étude sur une plus large cohorte de patients. L'ensemble de ce travail permet de mieux comprendre les bases moléculaires du Syndrome de Brugada.

Resume Hajer Foddha Nantes.doc

P534 : Deux nouvelles mutations homozygotes dans le gène MME chez deux cas atteints de formes axonales récessives de la maladie de Charcot-Marie-ToothTooth (AR-CMT2).

Auteurs :

Lara EL BAZZAL (1), Christel CASTRO (2), Nathalie ROECKEL-TREVISIOL (3), Jean-Pierre DESVIGNES (3), Eliane CHOUERY-KHOURY (4), Rosette JABBOUR (5), Raymond CHEMALY (6), Andre MEGARBANE (7, 8), Valérie DELAGUE (9)

1. GMGF, UMR_S 910, Aix Marseille Université, Inserm, Marseille, France
2. GMGF, UMR_S 910, Aix Marseille Univ, Inserm, Marseille, France
3. GMGF, UMR_S 910, Aix Marseille Univ, Inserm, MARSEILLE, France
4. Unité de Génétique Médicale, Université Saint-Joseph, Beyrouth, Liban
5. Neurology Division, Department of Internal Medicine, St George Hospital University Medical Center-UOB,, , Beirut, Liban
6. Neurologie, Hotel Dieu, Beyrouth, Liban
7. CEMEDIPP, Centre médical et psychopédagogique, Beyrouth, Liban
8. Institut Jérome Lejeune, Institut Jérome Lejeune, Paris, France
9. GMGF, UMR_S 910, Aix Marseille Université, Inserm, marseille, France

Mots clefs : charcot-Marie-Tooth, neuropathie, IRX5, mutation, homozygote

Résumé :

Les Neuropathies Périphériques Héréditaires (IPN) constituent l'une des causes les plus fréquentes de maladies neurologiques héréditaires, et se distinguent par une dégénération progressive, longueur-dépendante, du système nerveux périphérique (SNP) et une forte hétérogénéité génétique et phénotypique . Parmi elles, les Neuropathies Sensitivo-motrices (HMSN), également connues sous le nom de maladie de Charcot-Marie-Tooth (CMT), constituent le groupe plus large. A l'heure actuelle, près de 120 gènes sont impliqués, parmi lesquels 80 sont responsables de CMT
Dans cette étude, nous avons étudié 3 patients issus de deux familles consanguines d'origine libanaise, et présentant une forme axonale, à révélation plutôt tardive, lentement progressive, de CMT axonal, à transmission autosomique récessive. Le séquençage à haut-débit de l'exome de 7 individus de ces deux familles a permis d'identifier, dans chaque famille une nouvelle mutation faux-sens homozygote. Dans la première famille, les deux frères atteints sont homozygotes pour la mutation faux-sens c.1580G > A (p.Arg227Gln) et dans la deuxième famille, l'individu atteint est homozygote pour la mutation faux-sens c.1730G > A (p.Gly577Asp). Les deux acides aminés Arg227 et Gly577 sont très conservés parmi les espèces, et les mutations ségrégent parfaitement avec le phénotype dans les deux familles. Les variations sont absentes des datasets gnomAD et de notre base locale qui contient les exomes de 329 individus libanais. Nous étudions l'effet de ces mutations sur l'épissage et l'expression de la protéine.
Ainsi, nous décrivons deux nouvelles mutations dans le gène *MME*. Ce gène a été décrit récemment majoritairement chez des patients japonais atteints de formes récessives axonales lentement progressives et à révélation tardive. Par la suite, des mutations hétérozygotes responsables de formes autosomiques dominantes ont été décrites, mais dans ce dernier cas, les mutations s'apparentent plus à des mutations prédisposantes, qu'à des mutations pathogènes. Le gène *MME* code pour la neprilysine, une métalloprotéase, exprimée dans de nombreux tissus, et responsable du clivage de nombreux neuropeptides. Dans le système nerveux périphérique, le rôle de MME reste à définir, mais une perturbation du turnover de protéines indispensables au bon fonctionnement du PNS semble probable.
En conclusion, dans cette étude, nous décrivons les premiers patients non japonais atteints de CMT, homozygotes pour des mutations dans le gène *MME.*

P535 : Défauts d'épissage et approches thérapeutiques dans les dysferlinopathies

Auteurs :

Marc Bartoli (1), Aurélia Defour (1), Virginie Kergourlay (2), Florian Barthélémy (3), Sébastien Courrier (1), Nicolas Lévy (1), Martin Krahn (1)

1. Myologie Translationnelle, Aix Marseille University, Marseille, France
2. , CSHL, Cold Spring Harbor, Etats-Unis
3. Molecular Biology Institute, UCLA, Los Angeles, Etats-Unis

Mots clefs : dysferline, épissage, saut d'exon, CRISPR

Résumé :

Les mutations dans le gène codant la dysferline (DYSF, Chr. 2p13; 55 exons, mRNA 6,2kb) causent différents phénotypes, principalement la dystrophie musculaire des ceintures de type 2B (Limb Girdle Muscular Dystrophy type 2B, LGMD2B) et la myopathie de Miyoshi (MM), de transmission autosomique récessive. Ces deux myopathies ont en commun un début chez l'adulte jeune, une évolution lente de la maladie, mais pouvant évoluer vers une perte de la marche, et une élévation importante du taux de CPK. Des phénotypes intermédiaires ont été décrits sous le terme de distal limb girdle dystrophy, avec un déficit à la fois proximal et distal. A ce jour, la prise en charge des patients est uniquement symptomatique puisqu'il n'existe aucune approche thérapeutique spécifique. La dysferline (2080 acides aminés, 237 kDa) comporte 7 domaines C2, impliqués dans la liaison Ca2+ et un domaine transmembranaire C-terminal. Souvent dans les maladies génétiques récessives avec une perte de fonction de la protéine, la protéine est absente, or les mutations faux-sens n'entrainent pas forcément une perte de la protéine. Des anomalies d'épissage peuvent entrainer des insertions ou des délétions qui peuvent décaler le cadre de lecture et provoquer l'apparition de codons stop prématurés, avec pour conséquence une absence de protéine. En effet, tous types de mutations (exoniques et introniques) peuvent altérer l'épissage et ainsi modifier les ARN messagers. Les effets sur l'épissage de mutations exoniques localisées hors des sites d'épissages, ainsi que les mutations introniques profondes sont particulièrement difficiles à prédire. Nos travaux montrent que des mutations introniques et exoniques avaient un effet délétère sur l'épissage. Toutes les mutations sur DYSF testées localisées dans les sites 5' et 3' d'épissage entrainent un épissage aberrant. Nous avons aussi montré que 20% des mutations faux-sens entrainent un épissage aberrant, par abolition ou création de nouveaux sites d'épissages (5' ou 3') et/ou abolition de séquences régulatrices. En corrélation avec nos résultats, l'effet délétère sur l'épissage causé par des mutations faux-sens est à prendre en considération et devrait être systématiquement recherché dans le cas de maladies génétiques avec une perte de fonction de la protéine. Cette caractérisation des anomalies d'épissage nous permet de développer des thérapies ciblées. Les progrès dans l'ARN interférence rendent possible l'utilisation d'oligonucléotides antisens qui vont masquer les sites d'épissages créés par ces mutations et restaurer l'épissage normal. C'est ce que nous avons réalisé en ciblant l'exon 32 de la dysferline. Cet exon avait été démontré comme étant dispensable pour la fonction de la dysferline. Actuellement, nous développons une stratégie de saut d'exon au niveau non pas de l'ARN pré-messager mais directement au niveau génomique en utilisant la technologie CRISPR. Les derniers développements seront présentés.

P536 : Identification de mutations en mosaïque par séquençage ciblé de nouvelle génération dans les hamartomes épidermolytiques

Auteurs :

Sabine DUCHATELET (1), Aurore POULIET (2), Vannina SETA (3), Nathalie PIRONON (1), Snaigune Miskinyte (1), Patrick NITSCHKE (4), Christine Bole-Feysot (2), Matthias TITEUX (1), Emmanuelle BOURRAT (5), Alain HOVNANIAN (1, 6)

1. Laboratoire des maladies génétiques cutanées, INSERM UMR1163, Institut Imagine, Paris, France
2. Plateforme de Génomique, INSERM UMR1163, Institut Imagine, Paris, France
3. Département de dermatologie, Hôpital de Bobigny, Bobigny, France
4. Plateforme Bioinformatique, INSERM UMR1163, Institut Imagine, Paris, France
5. Département de dermatologie, Hôpital Saint Louis, Paris, France
6. Service de Génétique, Hôpital Necker, Paris, France

Mots clefs : Séquençage de nouvelle génération, mosaïque, hamartome épidermolytique

Résumé :

Les ichtyoses constituent un groupe hétérogène de maladies génétiques caractérisées par des anomalies de la cornification, se traduisant par une hyperkératose et un érythème de sévérité variable. L'ichtyose épidermolytique (IE) est une forme d'ichtyose kératinopathique (IKP), due à des mutations le plus souvent dominantes des gènes codant les kératines (KRT) 1 et 10. Elle se caractérise par la présence de bulles et de décollements cutanées à la naissance, puis secondairement par l'apparition progressive de lésions hyperkératosiques prédominant dans les plis. L'hamartome épidermolytique (HE) est une forme localisée d'IE présentant une distribution souvent linéaire et unilatérale suivant les lignes de Blaschko. L'HE est dû à des mutations en mosaïque des gènes *KRT1* et *KRT10.*
A ce jour, l'identification de mutations en mosaïque restait techniquement très difficile, le taux de mosaïcisme étant souvent inférieur au seuil de sensibilité du séquençage par la méthode de Sanger (~10-20%). Le séquençage de nouvelle génération (NGS) permet une meilleure sensibilité de détection des mutations et une quantification précise du taux de mosaïcisme. Nous avons recherché des mutations des gènes *KRT1* et *KRT10* par NGS chez 12 patients non apparentés atteints d'HE à partir de différents prélèvements tissulaires (sang, salive, épiderme et derme séparés à partir de biopsies de peau lésée et de peau saine).
Nous avons obtenu une profondeur moyenne de lecture de 1496X avec un panel de gènes ciblés incluant uniquement *KRT1* et *KRT10*. Nous avons identifié des mutations chez les 12 patients avec un taux de mosaïcisme compris entre 4 et 30% dans l'épiderme lésé. Ces patients sont porteurs de mutations précédemment décrites dans l'IE. Ces mutations sont détectées à un taux plus faible (2 à 6%) dans le derme lésé pour certains patients, ce qui doit probablement résulter d'une contamination du derme par l'épiderme au moment de leur séparation. Par contre, elles n'ont pas été détectées à partir du sang, de la salive ou l'épiderme et le derme issus de la peau saine. Nous avons également analysé 3 de ces patients avec un panel de gènes ciblés incluant 178 gènes. Nous avons obtenu une profondeur moyenne de lecture de 989X et avons détecté ces mutations avec le même taux de mosaïcisme.
Notre étude démontre la puissance de détection de mutations en mosaïque par NGS et souligne l'importance de réaliser cette analyse à partir d'une biopsie cutanée de peau lésée.

Abstract Assises Genetiques 2018 Hamartome.docx

P537 - DPC : Elargissement du spectre phénotypique des porteurs de mutations dans le gène FBN2 : cas d'un patient présentant un anévrisme de l'aorte thoracique isolé

Auteurs :

Pauline ARNAUD (1, 2), Nadine HANNA (1, 2), Olivier MILLERON (3), Claire BOULETI (3), Laurent GOUYA (3), Maud LANGEOIS (3), Catherine BOILEAU (1, 2), Guillaume JONDEAU (3, 2)

1. Département de Génétique, Hôpital Bichat, AP-HP, PARIS, France
2. INSERM U1148, Hôpital Bichat, PARIS, France
3. Centre National Maladies Rares, Syndrome de Marfan et apparentés, Hôpital Bichat, AP-HP, PARIS, France

Mots clefs : Syndrome de Beals, Anévrisme de l'aorte thoracique, Diagnostic moléculaire, Gène FBN2

Résumé :

Le syndrome de Beals est une maladie du tissu conjonctif qui est caractérisée notamment par des contractures, une arachnodactylie, une scoliose et des anomalies morphologiques des oreilles. Des mutations dans le gène *FBN2*, codant pour la fibrilline-2 ont été identifiées chez des patients atteints du syndrome de Beals selon un mode de transmission autosomique dominant. Le syndrome de Beals présente des caractéristiques cliniques communes avec le syndrome de Marfan (mutations du gène *FBN1*), dont la gravité est liée à des anévrismes de l'aorte ascendante (TAA).
Quelques cas de patients porteurs de mutations dans le gène *FBN2* avec un TAA voire une dissection aortique ont été décrits dans la littérature. Cependant, cette atteinte cardiaque est toujours associée à d'autres signes cliniques typiques du syndrome de Beals.
Nous rapportons ici le premier cas d'anévrisme de l'aorte ascendante isolé chez un patient porteur d'une mutation dans le gène *FBN2*.
Ce patient de 42 ans a été inclus dans le PHRC National TAA AOM10108 (abstract n°13163) devant une dilatation de la racine aortique à 50mm sans autres signes cliniques notables ni antécédents familiaux particuliers. Un séquençage haut débit de l'ensemble des gènes connus de TAA (25 gènes) a donc été réalisé. Un seul défaut moléculaire a été identifié. Il s'agit d'une mutation faux sens situé dans l'exon 31 du gène *FBN2* (c.3980A>T – p.Asn1327Ile). Elle touche un résidu hautement conservé, consensus des modules cb-EGF, et est donc susceptible d'altérer la conformation protéique. L'utilisation de différents algorithmes de prédiction (UMD-Predictor®, SIFT, PolyPhen-2, CADD) confirme le caractère pathogène très probable de cette mutation. Elle est absente des bases de données de population (gnomAD, FrEx) et n'avait jamais été répertoriée au laboratoire ni dans la base de données de patients UMD-FBN2 (www.umd.be).
Cette première observation peut nous permettre d'envisager à court terme le screening systématique du gène *FBN2* en cas de TAA. Sur le plan clinique, cette observation a des conséquences sur le suivi et la prise en charge, en particulier cardiovasculaire, des patients porteurs de mutations dans le gène *FBN2*. L'élargissement à ce gène des panels de séquençage haut débit dédiés au diagnostic moléculaire des TAA permettra probablement d'identifier d'autres cas similaires et de préciser la prise en charge nécessaire.

Arnaud - Assises Génétique - FBN2.docx

P538 : L'allèle 09:01 du HLA-DRB1 est associé au taux d'IgE total chez des asthmatiques afro-américains provenant de la cohorte CAAPA.

Auteurs :

Nicolas Vince (1), Sophie Limou (1, 2), Michelle Daya (3), Nicholas Rafaels (3), Jill Hollenbach (4), Antoine Lizée (1), Estelle Geffard (1), Alexandre Walencik (1, 5), Maria Pino-Yanes (6), Steven Salzberg (7), Daehwan Kim (7), Harold Watson (8), Leslie Lange (3), James Wilson (9), Terri Beaty (10), Margaret Taub (11), Ingo Ruczinski (11), Rasika Mathias (12), CAAPA Consortium on Asthma among African-ancestry Popula (12), Kathleen Barnes (3), Dara Torgerson (4), Pierre-Antoine Gourraud (1)

1. Centre de Recherche en Transplantation et Immunologie UMR 1064, INSERM, Université de Nantes, Nantes, France, Nantes, France
2. Département informatique et mathématiques, Ecole Centrale de Nantes, Nantes, France
3. Department of Medicine, University of Colorado Denver, Aurora, CO, USA, Denver, Etats-Unis
4. School of Medicine, University of California San Francisco, San Francisco, CA, USA, San Fransisco, Etats-Unis
5. Laboratoire HLA, EFS Pays de la Loire, Nantes, France, Nantes, France
6. Research Unit, Hospital Universitario N.S. de Candelaria, Universidad de La Laguna, Santa Cruz de Tenerife, Spain, Santa Cruz de Tenerife, Espagne
7. Center for Computational Biology, Johns Hopkins University, Baltimore, MD, USA, Baltimore, Etats-Unis
8. Faculty of Medical Sciences, The University of the West Indies, Queen Elizabeth Hospital, Bridgetown, St. Michael, Barbados, Bridgetown, Barbade
9. Department of Physiology and Biophysics, University of Mississippi Medical Center, Jackson, MS, USA, Jackson, Etats-Unis
10. Epidemiology, Johns Hopkins University, Baltimore, MD, USA, Baltimore, Etats-Unis
11. Biostatistics, Johns Hopkins University, Baltimore, MD, USA, Baltimore, Etats-Unis
12. School of Medicine, Johns Hopkins University, Baltimore, MD, USA, Baltimore, Etats-Unis

Mots clefs : HLA, asthma, IgE, imputation

Résumé :

Aim: To study the association between *HLA* and asthma disease in the largest cohort of African American asthmatics (CAAPA).
Background: Several genome-wide association studies (GWASs) have found strong associations between asthma and SNPs from the *MHC* region in European and Japanese populations. However, these studies did not investigate the role of HLA alleles. Examining HLA alleles is required to decipher the precise functional contribution of variations within the MHC region on asthma susceptibility and severity, rather than restricting analyses to non-functional SNP variants.
Methods: From deep genotyping data within the MHC region, we imputed HLA alleles in 7,416 CAAPA individuals of African ancestry, including 3,338 asthma cases and 4,056 controls. To optimize the HLA imputation accuracy, we used the R package HIBAG by building our own reference dataset with 917 CAAPA individuals from whom we had collected NGS HLA typing and 28,781 MHC SNPs; therefore establishing the largest reference panel for HLA imputation in African Americans. We then tested each HLA allele for association with asthma using a linear regression model including ancestry as a covariate. Finally, we used the same model to assess association with total IgE level as continuous variable in a subgroup of 1,182 asthmatics.
Results: Our data indicates that HLA class I and class II alleles do not significantly contribute to asthma susceptibility in this large cohort of African ancestry individuals. However, we observed that HLA-DRB1*09:01 was significantly associated with the level of total IgE in asthmatic individuals ($P = 7.0x10^{-4}$).
Conclusions: Our results highlight the need to further develop population-appropriate reference panels to examine the role of HLA alleles in genetic studies of complex disease. The absence of significant association in the case-control analysis could be interpreted as a lack of precision in determining the exact asthma subphenotype to study. When focusing on the total IgE level in asthmatics, we could determine that HLA-DRB1*09:01 was significantly associated with an increase of total IgE. This study also emphasizes the importance of 1) grouping resources to gain power and 2) diversifying the origin of studied population which overall help characterize new genetics associations.

P539 - DPC : Un nouveau cas de Tachycardie Ventriculaire Catécholaminergique avec mutation du gène KCNJ2 et revue de la littérature.

Auteurs :

Pauline Le Tanno (1), Laurence Faivre (2), Gabriel Laurent (3), Amandine Chatagnon (4), Leslie Lira (4), Marina Lamairia (4), Nathalie Roux-Buisson (4, 5), Julien Fauré (4, 5)

1. Laboratoire de Biochimie Génétique Moléculaire, Institut de Biologie et de Pathologie, CHU Grenoble Alpes , Grenoble, France
2. Centre de Génétique, CHU Dijon Bourgogne, Hôpital François Mitterand, Dijon, France
3. Service de Cardiologie, CHU Dijon Bourgogne, Hôpital François Mitterand, Dijon, France
4. Laboratoire de Biochimie Génétique Moléculaire, Institut de Biologie et de Pathologie, CHU Grenoble Alpes , grenoble, France
5. INSERM U1216, Equipe CMyPath, Grenoble Institut des Neurosciences, grenoble, France

Mots clefs : KCNJ2, Catecholaminergic Polymorphic Ventricular Tachycardia, Andersen-Tawil syndrome, Next-Generation Sequencing

Résumé :

Catecholaminergic Polymorphic Ventricular Tachycardia (CPVT) is a rare and severe heritable arrhythmia disorder at risk of sudden death in late infancy, characterized by syncope or cardiac arrest triggered by emotion or exercise. While resting ECG is usually normal, exercise stress test may unmask ventricular arrhythmias. Genetic mutations are identified in about 50-70 % of cases, mainly in *RYR2* and *CASQ2,* and extremely rarely in other genes, as *KCNJ2*.
KCNJ2 (MIM#600681) encodes the alpha-subunit inward rectifier potassium channel 2 protein and is usually associated with the Andersen-Tawil syndrome (ATS) (MIM#170390) defined by the triad periodic paralysis, cardiac arrhythmias and dysmorphic features.
We report here a new case of CPVT with a *KCNJ2* mutation. The proband was a 19-year-old girl, symptomatic since age 16, with palpitations triggered by exercise or emotion. A strong suspicion of CPVT was present since her resting ECG evidenced atrial and ventricular premature contractions and U waves, while exercise stress test revealed various ventricular arrhythmias increasing with rising workload. It was a sporadic case with no other extra-cardiac symptoms. Genetic screening initially performed for hot spot mutations of *RYR2* and *CASQ2* genes by Sanger sequencing was negative. However, few years later, a Next Generation Sequencing screening of an enlarged panel of CPVT genes (*RYR2, CASQ2, TRDN, CALM1, ANK2* and *KCNJ2)* allowed to identify a p.Arg82Trp missense variation in *KCNJ2* gene (NM_000891.2:). Family screening is in progress. The p.Arg82Trp variant is a recurrent mutation reported in 5 patients in the literature, mainly in women with a diagnosis of CPVT, long QT syndrome or atypical ATS. Previous functional characterization of this mutation uncovered a marked dominant negative effect with a >95% reduction of outward channel current.
In the literature, ventricular arrhythmias appear as the most constant symptom among patients with *KCNJ2* mutations but appear less commonly associated with syncope, cardiac arrest or sudden death than in CPVT. However, they may sometimes mimic the cardiac phenotype observed in CPVT. This can be a source of confusion, even more when other clinical features of ATS are lacking or discrete, and molecular diagnosis could be missed.
This new case report highlights the importance of providing an accurate cardiological diagnosis and further shows the great interest of *KCNJ2* analysis in patients presenting with a CPVT phenocopy. The inclusion of *KCNJ2* in a first or second intention panel of next generation sequencing is useful in such case to early identify the molecular basis, thus helping to guide therapeutic options, and prevent arrhythmias in relatives.
Due to the rare *KCNJ2* mutations in CPVT, specific clinical features are needed to sort out *KCNJ2*-mutated patients from other CPVT patients. Among those, resting ECG with abnormal U waves seem to appear as a trait particularly linked to *KCNJ2* mutations.

abstract assies génétique KCNJ2_2017_10_09.docx

P540 : Application du séquençage de nouvelle génération au diagnostic moléculaire des anémies hémolytiques congénitales

Auteurs :

Lamisse MANSOUR-HENDILI (1), Valérie ORTONNE (1), Abdelrazak AISSAT (1), Bouchra BADAOUI (2), Orianne WAGNER-BALLON (2), Véronique PICARD (3), Khaldoun GHAZAL (4), Serge PISSARD (1), Michel BAHUAU (1), Claude PREHU (1), Stéphane MOUTEREAU (5), Corinne GUITTON (6), Benoît FUNALOT (1), Frédéric GALACTEROS (7)

1. Département de génétique, APHP HENRI MONDOR, CRETEIL, France
2. Laboratoire d'hématologie, APHP HENRI MONDOR, CRETEIL, France
3. Laboratoire d'hématologie, APHP BICETRE, LE KREMLIN BICETRE, France
4. Laboratoire de Biochimie, APHP BICETRE, LE KREMLIN BICETRE, France
5. Laboratoire de Biochimie, APHP HENRI MONDOR, CRETEIL, France
6. SERVICE D'HEMATOLOGIE PEDIATRIQUE, APHP BICETRE, CRETEIL, France
7. Centre de référence des syndromes drépanocytaires majeurs, APHP HENRI MONDOR, CRETEIL, France

Mots clefs : Globules rouges et Fer, Anémie hémolytique, Sphérocytose héréditaire

Résumé :

Introduction : Les anémies hémolytiques congénitales (AHC) constituent un groupe d'affections monogéniques rares caractérisé par une augmentation de la fragilité des hématies conduisant à leur destruction par hémolyse. Le phénotype varie de l'anémie sévère à une hémolyse très bien compensée sans anémie ni retentissement clinique. Les symptômes peuvent inclure une anémie, un ictère, des lithiases biliaires, une dysérythropoïèse avec surcharge en fer. Quand l'exploration phénotypique n'est pas concluante ou non interprétable l'analyse moléculaire est justifiée et permet souvent d'effectuer le diagnostic. Nous avons opté pour le séquençage de nouvelle génération permettant de séquencer dans une même analyse tous les gènes impliqués, y compris les plus grands, dans un sous-phénotype donné.
Patients et méthodes : 10 patients (issus de 10 familles différentes) présentant une hémolyse constitutionnelle non étiquetée ont été inclus dans cette étude. L'ADN a été enrichi par capture exomique (Medexome Roche Nimblegen®) et séquencé par la technologie Illumina (séquenceur Nextseq500-Illumina®). Les régions mal couvertes (profondeur < 30x) ont été complétées par séquençage Sanger. L'analyse bioinformatique a été réalisée localement à l'aide d'un « pipeline » d'alignement et d'assignement de variants : « BWA GATK Best practices » et l'interprétation a été effectuée à l'aide des logiciels Alamut (Interactive biosoftware®) et IVA (Ingenuity variant analysis)(Qiagen®). Le logiciel Seqnext (JSI®) a également été utilisé lorsque cela était pertinent. Seuls les gènes inclus dans une liste prédéfinie de 58 gènes déjà impliqués dans les anémies hémolytiques constitutionnelles ont été analysés, puis l'interprétation s'est faite selon le sous-phénotype.
Résultats : 91% des gènes du panel sont couverts complètement dans leurs régions codantes avec une profondeur de lecture supérieure ou égale à 30x. Nous avons identifié chez 9 patients, six nouvelles variations de séquence non décrites dans les gènes *ANK1,SLC4A1* et *SPTA1* et trois mutations déjà décrites dans les gènes *SPTB, ANK1* et *ALAS2*.Les études protéiques fonctionnelles réalisées pour deux de ces patients ont confirmé le caractère délétère de deux nouvelles variations dans les gènes *ANK1* codant pour l'ankyrine et *SLC4A1* codant pour la protéine bande 3. Chez un patient, nous n'avons pas retrouvé de cause moléculaire évidente au phénotype parmi les gènes analysés.
Conclusion : Cette technologie est parfaitement adaptée au diagnostic génétique des anémies hémolytiques congénitales. La confirmation moléculaire peut s'avérer cruciale dans les cas où le diagnostic est incertain et que la décision thérapeutique dépend du phénotype exact. L'analyse moléculaire multigénique peut permettre de réévaluer ou de réorienter le diagnostic initial et de fournir des explications à la variabilité phénotypique. Pour valider cette approche il faudra caractériser par cette méthode de nombreuses familles.

P541 - DPC : Diagnostic moléculaire de 1ère intention des cardiomyopathies héréditaires par un panel de 12 gènes codant pour des protéines sarcomériques et non sarcomériques

Auteurs :

Chadia Mekki (1), Christian Vasseur (1), Rakia Bhouri (1), Thierry Gaillon (2), Valérie Delattre (1), Abdel Aissat (1), Guillaume Gricourt (3), Bérénice Hebrard (1), Soulef Guendouz (4), Thibaud Damy (4), Pascale Fanen (1), Benoit Funalot (1)

1. Département de Génétique, Hôpital Henri Mondor, Créteil, France
2. Département de génétique, Hôpital Henri Mondor, Créteil, France
3. Département d'hématologie biologique et immunologie, Hôpital Henri Mondor, Créteil, France
4. Service de Cardiologie, Hôpital Henri Mondor, Créteil, France

Mots clefs : Cardiomyopathies héréditaires, CMH, CMD, CMR, protéines sarcomériques, protéines non sarcomériques

Résumé :

Les cardiomyopathies héréditaires sont des atteintes génétiques primitives du muscle cardiaque avec des anomalies structurelles et/ou fonctionnelles. Il existe 4 formes majeures de cardiomyopathies selon le phénotype : cardiomyopathies hypertrophiques (CMH), cardiomyopathies dilatées (CMD), cardiomyopathies restrictives (CMR) et cardiomyopathies ventriculaires droites arythmogènes (CVDA). Nous avons développé un panel de séquençage de nouvelle génération (NGS) pour le diagnostic des cardiomyopathies héréditaires en utilisant la technologie TruSeq Custom Amplicon Low Input (Illumina). Ce panel inclut 9 gènes majeurs codant pour des protéines du sarcomère (*MYBPC3, MYH7, TNNI3, TNNT2, TPM1, MYL2, MYL3, CSRP3* et *ACTC1*). Nous avons également inclus 3 gènes pouvant entrainer des cardiomyopathies non sarcomériques : *GLA, TTR* et *LMNA.* Après préparation de la librairie, les régions d'intérêts sont amplifiées puis séquencées avec l'automate Miseq^{MD} (Illumina). Les analyses bioinformatiques ont été réalisées avec différents logiciels : Miseq Reporter, SeqNext (JSI Medical Systems) et Smaug (suite bioinformatique développée au laboratoire). Toutes les mutations et variants de signification inconnu ont été confirmés par séquençage Sanger.
Nous avons analysé 91 ADNs de patients atteints de différentes formes de cardiomyopathies (hypertrophiques, dilatées ou restrictives), avec antécédents familiaux ou non. Les données de couverture pour les régions d'intérêts sont satisfaisantes pour tous les patients. Nous avons identifié 39 mutations pathogènes ou probablement pathogènes dont 3 sont de nouvelles mutations. Cette méthode nous a permis d'élucider 40% des cas. 72.5% des mutations identifiées sont localisées dans les gènes codant pour les protéines du sarcomère et 27.5% dans les 3 autres gènes.
Bien que les gènes codant pour les protéines du sarcomère soient les plus fréquemment impliqués dans les cardiomyopathies héréditaires, il paraît utile de ne pas se limiter à l'exploration de ces seuls gènes en contexte diagnostique, y compris chez les patients présentant une CMH. Le mode de transmission et l'aspect du myocarde en imagerie peuvent, dans certains cas, orienter les explorations vers des gènes ne codant pas pour des protéines du sarcomère. Ces résultats montrent l'importance des discussions clinico-biologiques pour une meilleure investigation génétique chez ces patients.

P542 : Performance du séquençage nouvelle génération dans le diagnostic moléculaire de l'ostéogenèse imparfaite

Auteurs :

sophie monnot (1), caroline michot (1, 2), julie litzler (1), coralie haudry (1), sylvain hanein (2), geneviève baujat (1, 2), arnold munnich (1, 2), jean-paul bonnefont (1, 2), valerie cormier-daire (1, 2)

1. Service de Génétique Médicale, Hôpital Necker-Enfants Malades, paris, France
2. U1663, Institut Imagine, paris, France

Mots clefs : ostéogenèse imparfaite, NGS, panel

Résumé :

L'ostéogenèse imparfaite (OI) regroupe un ensemble de pathologies caractérisées par une fragilité osseuse. Il existe une importante hétérogénéité clinique allant de l'atteinte foetale létale à des formes modérées de l'adulte. A ce jour, 17 gènes ont été impliqués dans l'OI : COL1A1, COL1A2, IFITM5 sont responsables d'OI de transmission autosomique dominante, 13 autres gènes sont responsables d'OI autosomiques recessives et PLS3 est responsable d'OI recessive liée à l'X. L'importance d'un diagnostic moléculaire correct 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 des gènes impliqués dans des diagnostics différentiels d'OI comme l'hypophosphatasie, l'ostéocraniosténose, le syndrome de Stuve-Wiedemann ou d'autres syndromes associant une fragilité osseuse.
Toutes les demandes d'analyse moléculaire dans ces contextes cliniques sont discutées au Centre de Référence des Maladies Osseuses Constitutionnelles. Les librairies sont préparées par capture (SureSelectXT Custom - Agilent) et le séquençage moyen débit est réalisé sur un MiSEq (Illumina). L'annotation des variants est réalisée sur une interface locale (Polydiag). Depuis 2015, 247 patients ont été analysés ce qui a permis l'identification de 178 mutations (72%) : 92 dans le gène COL1A1, 48 dans le gène COL1A2, 7 dans le gène IFITM5 pour les OI dominantes, 3 dans le gène LRP5, 23 mutations dans des gènes responsables d'OI recessives et 5 mutations dans des gènes impliqués dans des diagnostics différentiels (FAM111A, LIFR, XYLT2). Après confirmation par séquençage Sanger, ces résultats sont discutés lors d'une réunion clinico-biologique afin de vérifier la compatibilté des variants avec le phénotype clinique et radiologique. Les patients sans mutation identifiée, ayant un phénotype fortement évocateur d'OI, peuvent secondairement bénéficier d'un séquençage de l'exome.
Le séquençage nouvelle génération permet l'étude simultanée de tous les gènes responsables d'OI avec un très bon rendement, 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.

P543 : Les caractéristiques cliniques et radiologiques de la dysplasie mandibulo-acrale à propos d'un cas

Auteurs :

Manel Guirat (1), Madiha Trabelsi (1), Sana Karoui (1), Lilia Kraoua (1), Faten Hsoumi (1), Fawzi Maazoul (1), Ridha M'rad (2)

1. service des maladies congénitales et héréditaires, EPS Charles Nicolle, , tunis, Tunisie
2. service des maladies congénitales et héréditaires, EPS Charles Nicolle, tunis, Tunisie

Mots clefs : dysplasie mandibulo-acrale, étude clinique, acro-ostéolyse, hypoplasie claviculaire

Résumé :

La dysplasie mandibulo-acrale (OMIM 248370) est une affection autosomique récessive très rare caractérisée cliniquement par un retard de croissance postnatal, des anomalies craniofaciales, ostéoarticulaires et cutanées et une lipodystrophie. Sur le plan génétique, deux gènes sont actuellement identifiés : LMNA et ZMPSTE24, mais d'autres loci seraient probablement en cause.
Nous proposons à travers ce travail, l'étude clinique et radiologique de la dysplasie mandibulo-acrale chez le premier cas tunisien.
Il s'agit d'un garçon âgé de 9 ans issu des parents non apparentés et qui présentait à l'examen clinique : une hypoplasie mandibulaire, une mal-implantation dentaire, des anomalies des extrémités avec aspect en baguette de tambour des doigts et des orteils, une raideur articulaire des genoux et une atteinte cutanée associant une pigmentation pommelée de la peau et une atrophie généralisée de la graisse sous cutanée. Le bilan biologique, réalisé à la recherche d'un syndrome métabolique fréquemment associé à ce syndrome, était revenu normal. Le bilan radiologique a permis de retenir le diagnostic de la dysplasie mandibulo-acrale en objectivant une hypoplasie de l'extrémité latérale de la clavicule droite et une acro-ostéolyse des mains et des pieds prédominant au niveau des 3 premiers rayons.
Le diagnostic de la dysplasie mandibulo-acrale est essentiellement clinico-radiologique. Toutefois, l'étude moléculaire reste indiquée afin de confirmer le diagnostic et d'étudier la corrélation génotype-phénotype.

P544 : Caractérisation d'une nouvelle duplication de PHEX dans une grande famille avec hypophosphatémie liée à l'X

Auteurs :

Arnaud Molin (1, 2), Ariane Cuny (3), Lydia Lichtenberger (4), Céline Ballandonne (2), Nadia Coudray (1), Sarah Snanoudj Verber (1), Hervé Mittre (1), Nicolas Richard (1), Marie-Laure Kottler (1, 2)

1. Génétique, CHU de Caen, Caen, France
2. EA7450 BioTARGen, Université Caen Normandie UFR Santé, Caen, France
3. Pédiatrie, CHU de Rouen, Rouen, France
4. Pédiatrie, CHU d'Amiens, Amiens, France

Mots clefs : hypophospatémie, rachitisme, PHEX, réarrangement

Résumé :

Introduction : L'hypophosphatémie liée à l'X est une tubulopathie rare dont le phénotype comprend classiquement chez l'enfant un retard de croissance postnatal avec arcature des membres inférieurs (AMI), puis à l'âge adulte, une enthésopathie calcifiante et des abcès dentaires aseptiques. Une surdité de perception est également décrite. Le phénotype biologique est caractérisé par une hypophosphatémie avec absence d'élévation de la 1,25-$(OH)_2D$ (calcitriol), secondaire à une concentration sérique inadaptée d'un facteur hyperphosphaturiant, le FGF23, responsable d'une baisse de la réabsorption tubulaire de phosphate et d'une diminution de la synthèse de calcitriol. La calcémie et la 25-OH-D sont normales ; la parathormone (PTH) est le plus souvent normale ou faiblement augmentée. Les phosphatases alcalines (PAL) sont élevées chez les enfants, particulièrement en période de forte croissance, et normales chez les adultes. Cette maladie dominante liée à l'X est associée à des mutations du gène *PHEX* identifiées par séquençage chez 57 à 78 % des patients, ou à de grands réarrangements de ce gène chez 22 à 43 % des patients.
Patients et méthodes : Le phénotype clinique du cas index est limité à un retard de croissance sans déformation des os longs ni anomalie métaphysaire. L'analyse du gène *PHEX* a consisté en une étude des régions codantes, des jonctions introns-exons et de la partie 3'UTR du gène par séquençage haut-débit et en une recherche de réarrangement par méthode Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA). Une étude du transcrit sanguin a été réalisée par séquençage Sanger après extraction de l'ARN du sang prélevé sur tube PAXGene Blood.
Résultat : Le phénotype biologique du cas index était caractéristique, à l'exception d'une absence d'élévation des PAL, en accord avec la paucité des signes osseux. Aucune variation de séquence de *PHEX* n'a été identifiée par séquençage. La MLPA a montré une duplication incluant les exons 19 et 20 (hg19 chrX:g.[(22,239,764_22,244,622)_(22,245,641_22,263,498)dup]). Le séquençage du transcrit mutant a révélé la présence d'un exon 19 et d'un exon 20 surnuméraires, sans décalage du cadre de lecture d'après les analyses *in silico*. Cette duplication a été identifiée chez plusieurs apparentés présentant également un phénotype discret avec petite taille, douleurs osseuses, et AMI chez le frère. Une duplication identique a été mise en évidence dans un second cas index, appartenant à la même famille ; son père présente une hypophosphatémie avec une taille conservée.
Conclusion : Nous rapportons une grande famille avec un nouveau variant de *PHEX* et un phénotype modéré d'hypophosphatémie liée à l'X. Nous soulignons l'intérêt de l'évaluation de la phosphatémie dans le bilan étiologique d'un retard de croissance. En l'absence de mutation détectée par séquençage, une recherche des réarrangements de *PHEX* est nécessaire en cas de phénotype biologique évocateur, même en cas de phénotype clinique discret.

P545 : Le variant m.616T>C de l'ARNtPhe mitochondrial est responsable d'un phénotype rénal associé ou non à des atteintes cardiaque et neurologiques de sévérité variable : A propos de deux cas d'une même fratrie.

Auteurs :

Aurélien Trimouille (1), Pierre Merville (2), Lionel Couzi (2), Sébastien Lepreux (3), Duval Fanny (4), Guilhem Solé (4), Karine Nubret (5), Vincent Veniard (5), Didier Lacombe (1, 6), Marie-Laure Martin-Negrier (3, 7)

1. Service de Génétique Médicale, CHU Pellegrin, Bordeaux, France
2. Service de Néphrologie-Transplantation, CHU Pellegrin, Bordeaux, France
3. Service de Pathologie, CHU Pellegrin, Bordeaux, France
4. Centre de référence des Maladies Neuromusculaires AOC, CHU Pellegrin, Bordeaux, France
5. Unité de traitement de l'insuffisance cardiaque, CHU Haut-Levêque, Bordeaux, France
6. INSERM U1211, Université de Bordeaux, Bordeaux, France
7. Centre de référence pour les maladies mitochondriales de l'enfant à l'adulte (CARAMMEL), CHU Pellegrin, Bordeaux, France

Mots clefs : NGS, ADN mitochondrial, néphropathie, myocardiopathie, myopathie, épilepsie, transplantation d'organe

Résumé :

Des variants de l'ADN mitochondrial (ADNmt) codant pour des ARNs de transfert (ARNt) peuvent être responsables de cytopathies mitochondriales, telles que les syndromes de MERRF et MELAS. Avec le développement du séquençage haut débit (NGS) de l'ADNmt, l'interprétation de nouveaux variants est délicate, leurs conséquences sur la structure secondaire des ARNt étant souvent difficilement prédictibles. La description des cas rencontrés peut aider à cette interprétation, ainsi qu'à une corrélation génotype-phénotype. Nous décrivons ici deux frères présentant tous deux une cytopathie mitochondriale, liée à la présence d'un variant de l'ARNt mitochondrial de la Phénylalanine ($ARNt^{Phe}$).
L'aîné, âgé de 31 ans, a présenté une cardiomyopathie hypokinétique et une insuffisance rénale nécessitant la réalisation d'une double greffe cardiaque et rénale en 2004. Les deux greffons sont toujours fonctionnels 12 ans après la transplantation. Par ailleurs, des extrasystoles fréquentes ont motivées l'introduction d'un traitement par flécaïne. Il n'a jamais présenté de symptomatologie neurologique.
Son frère, âgé de 27 ans, a présenté une insuffisance rénale motivant la réalisation d'une première greffe en 2004, puis d'une deuxième en 2006 après le rejet du greffon. L'apparition d'une glomérulopathie d'allogreffe a conduit à un second rejet, et à une troisième greffe en 2014. Il présente une atteinte neurologique associant un syndrome pyramidal, une faiblesse musculaire, un nystagmus, ainsi qu'une épilepsie contrôlée par le traitement. Les contrôles par échographie cardiaque et ECG réalisés durant le suivi n'ont jamais retrouvés d'anomalie. Une IRM cérébrale retrouve une agénésie partielle du corps calleux, sans autre anomalie.
Le séquençage complet de l'ADNmt réalisé sur de l'ADN extrait de leucocytes a pu mettre en évidence la présence du variant m.616T > C présent à l'état hétéroplasmique majoritaire à 90% chez l'aîné, et à l'état homoplasmique chez son frère, dans le gène codant pour l'$ARNt^{Phe}$ mitochondrial.
Ce variant a déjà été rapporté à deux reprises. Une première patiente présentait un tableau à prédominance neurologique, avec une épilepsie partielle complexe pharmaco-résistante débutée à l'âge de 10 mois, associée à un retard de développement et à une paraplégie spastique. Elle présentait également une insuffisance rénale chronique, et est décédée d'un arrêt cardiaque durant un état de mal épileptique à l'âge de 17 ans.
Une seconde étude rapporte ce variant chez deux familles issues de cohortes d'étude de néphropathies tubulo-interstitielles. Cependant, nous ne disposons pas d'information clinique détaillée sur celles-ci.
Les patients porteurs de ce variant m.616T > C présentent donc tous une atteinte néphrologique, associée ou non à une atteinte neurologique et cardiaque de sévérité variable. La réalisation d'études fonctionnelles pourrait permettre de déterminer les conséquences de ce variant dans les processus de traduction des protéines mitochondriales.

Abstract Assises Mito.docx

P546 : Sévérité variable dans des cas d'épidermolyse bulleuse dystrophique hétérozygotes composites pour des mutations récessives et dominantes de COL7A1 : implications pour le conseil génétique.

Auteurs :

Sabine DUCHATELET (1), Nathalie PIRONON (1), Snaigune Miskinyte (1), Matthias TITEUX (1), Emmanuelle BOURRAT (2), Alain HOVNANIAN (1, 3)

1. Laboratoire des maladies génétiques cutanées, INSERM UMR1163, Institut Imagine, Paris, France
2. Département de dermatologie, Hôpital Saint Louis, Paris, France
3. Service de Génétique, Hôpital Necker, Paris, France

Mots clefs : épidermolyse bulleuse dystrophique, hétérozygote composite, mutations récessives et dominantes

Résumé :

Les Epidermolyses Bulleuses Dystrophiques (EBD) sont dues à des mutations du gène *COL7A1* codant le collagène VII. Elles se transmettent selon un mode autosomique dominant (EBDD) ou récessif (EBDR). Nous rapportons quatre cas non apparentés (âgés de 20 à 49 ans), présentant une EBD de sévérité différente, dont l'analyse par panel NGS a révélé qu'ils sont hétérozygotes composites pour une mutation dominante et une mutation récessive de *COL7A1*. Dans la première famille, la mère et deux de ses enfants présentent un phénotype minime avec une dystrophie unguéale et décollements bulleux mineurs et sont hétérozygotes pour une mutation d'épissage (p.Asp2684-Gly2704del). A l'opposé, quatre frères et sœurs présentent un phénotype plus sévère avec des contractures des doigts et des sténoses œsophagiennes et sont porteurs d'une mutation récessive additionnelle (p.Ser2447Aspfs*17). Dans la seconde famille, la mère rapporte une histoire multi générationnelle de décollements bulleux légers et de dystrophie unguéale. Sa fille présentait un phénotype plus sévère avec une constriction et des contractures des doigts et une sténose œsophagienne. Les deux sont porteuses d'une mutation dominante p.Gly2009Val, mais la fille a également hérité une mutation récessive p.Arg2791Trp de son père sain. Les deux autres patients sont des cas sporadiques issus de parents sains. Le troisième patient présente de décollements bulleux prédominants aux jambes sans anomalies des doigts ni sténose œsophagienne. Il est hétérozygote composite pour une mutation récessive p.Arg1538His héritée de sa mère saine et une mutation dominante p.Gly2079Arg survenue *de novo*. Le quatrième patient évoque une EBDR inversée avec des lésions des grands plis, des contractures des doigts sans pseudosyndactylie et une sténose œophagienne. L'analyse moléculaire a révélé la présence d'une mutation dominante p.Gly2003Arg et d'une mutation récessive p.Arg578*. Ses parents n'ont pas encore été testés. Ce étude souligne l'importance de la recherche d'une seconde mutation récessive de *COL7A1* dans les cas où un patient présente une sévérité inattendue dans des familles d'EBD dominante et illustre la variabilité phénotypique résultant de la combinaison de mutations récessives et dominantes de *COL7A1*.

Abstract Assises Genetiques 2018 EBD.docx

P547 : Hyperbilirubinémie néonatale et syndrome de Gilbert : deux entités moléculaires différentes ?

Auteurs :

Aurélie Hubert (1, 2), Frédéric Parisot (2), Ariane Perry (1), Philippe Labrune (1), François Petit (2)

1. Centre de référence des maladies héréditaires du métabolisme hépatique, service de pédiatrie, Hôpital Antoine Béclère, Clamart, France
2. Laboratoire de génétique moléculaire, Hôpital Antoine Béclère, Clamart, France

Mots clefs : hyperbilirubinémie néonatale, syndrome de Gilbert, gène UGT1A1

Résumé :

L'hyperbilirubinémie est une situation clinique fréquente en période néonatale classiquement assimilé à un syndrome de Gilbert. Souvent bénigne, elle peut cependant être source d'inquiétudes pour les équipes pédiatriques lorsque l'ictère est particulièrement intense et/ou prolongé, faisant alors craindre le diagnostic d'une maladie de Crigler-Najjar. Sur le plan moléculaire, le syndrome de Gilbert, dans les populations caucasienne et africaine, est caractérisé par la présence d'un ou deux dinucléotides (TA) supplémentaires dans la séquence promotrice TATAbox du gène *UGT1A1*. Dans la population asiatique, ce variant du promoteur est rare et le syndrome de Gilbert est alors lié à des mutations faux-sens exoniques dont la plus fréquente est la c.211G>A.
Nous avons collecté rétrospectivement les résultats des analyses moléculaires réalisées chez 124 nouveau-nés de moins de trois mois (81 garçons et 43 filles) adressés entre 2014 et 2016 pour ictère intense et persistant (aucun de ces enfants ne présentait de maladie de Crigler-Najjar) répartis en 100 enfants d'origine caucasienne et africaine et 24 enfants d'origine asiatique. Pour chaque enfant, les variants suivants ont été recherchés : nombre de répétition du dinucléotide TA dans le promoteur, mutation c.-3279T>G dans la séquence PBREM, mutation faux-sens c.211G>A.
Chez les enfants d'origine asiatique, la mutation c.211G>A à l'état homozygote a été retrouvée dans 33% des cas (pour une fréquence en population générale d'environ 2%) et le variant (TA)7 n'a pas été retrouvé à l'état homozygote. Chez les enfants d'origine caucasienne et africaine, le variant (TA)7 a été retrouvé à l'état homozygote dans 9% des cas alors que sa fréquence en population générale est d'environ 16%. Il existe un fort déséquilibre de liaison entre la mutation c.-3279T>G et le variant du promoteur de sorte que le poids de la mutation c.-3279T>G ne peut être complètement évalué. Cependant, les fréquences des combinaisons alléliques T/T, T/G et G/G n'étaient pas significativement différentes entre les patients et les témoins porteurs du variant (TA)6 à l'état homozygote.
En conclusion, il apparait que le variant du promoteur du gène *UGT1A1* impliqué dans le syndrome de Gilbert n'est pas à l'origine des ictères intenses et/ou prolongés en période néonatale, ni un facteur aggravant en termes de durée ou d'intensité. En revanche, dans la population asiatique, les variants exoniques semblent liés à la présence de l'ictère en période néonatale. Une hypothèse expliquant ces ictères pourraient être un défaut de régulation du cycle de la bilirubine en période néonatale : la bilirubine, physiologiquement augmentée pour son effet anti-oxydant lors du passage du milieu utérin au milieu aérien oxygéné, pourrait voir son métabolisme réduit du fait d'un défaut de recyclage. D'autres analyses moléculaires sur les enzymes impliquées dans le cycle d'oxydo-réduction de la bilirubine sont actuellement en cours pour tester cette hypothèse.

P548 : Implication du variant pathogène m.13513G>A dans le gène MT-ND5 dans les néphropathies de l'adulte : à propos d'un cas

Auteurs :

Hugo Bakis (1), Aurélien Trimouille (2), Isabelle Redonnet Vernhet (3, 4), Sébastien Lepreux (5), Romain Boulestreau (6), Didier Lacombe (2, 7), Marie-Laure Martin-Negrier (5, 4), Christian Combe (1), Claire Rigothier (1)

1. Service de Néphrologie-Transplantation-Dialyse et Aphérèses, CHU Pellegrin, Bordeaux, France
2. Service de Génétique Médicale, CHU Pellegrin, Bordeaux, France
3. Laboratoire de Biochimie, CHU Pellegrin, Bordeaux, France
4. Centre de référence pour les maladies mitochondriales de l'enfant à l'adulte (CARAMMEL), CHU Pellegrin, Bordeaux, France
5. Service de Pathologie, CHU Pellegrin, Bordeaux, France
6. Service de Cardiologie et hypertension artérielle, CHU Saint André, Bordeaux, France
7. INSERM U1211, Université de Bordeaux, Bordeaux, France

Mots clefs : NGS, ADN mitochondrial, néphropathie, atrophie optique, syndrome de Wolff Parkinson White

Résumé :

Les variants pathogènes de l'ADN mitochondrial (ADNmt) induisent des phénotypes systémiques pouvant inclure des néphropathies kystiques et glomérulaires débutant dans l'enfance et exceptionnellement rapportées chez l'adulte.
Un patient de 29 ans est admis en soins intensifs pour une détresse respiratoire. Il présente un retard mental avec déficit de l'attention et de la mémoire.
La détresse respiratoire est secondaire à un œdème pulmonaire néphrogénique avec une insuffisance rénale aiguë, acidose lactique et une HTA sévère compliquée d'une MAT. La protéinurie est glomérulaire avec une hématurie microscopique. L'échographie rénale retrouve des reins polykystiques. L'examen anatomopathologique rénal retrouve une fibrose interstitielle sévère avec atrophie tubulaire sans lésions glomérulaire ou vasculaire. Le patient débute l'hémodialyse chronique devant l'absence de récupération.
Au plan neurologique, il présente une confusion avec sur la TDM cérébrale une hémorragie méningée focale cérébelleuse. L'IRM cérébrale ne retrouve pas d'autre anomalie.
L'ECG retrouve un syndrome de Wolff Parkinson White avec une conduction orthodromique qui se complique d'un super-Wolff avec nécessité de choc électrique externe et de l'ablation de 3 faisceaux accessoires. L'ETT montre une hypertrophie ventriculaire droite et gauche avec une FeVG à 55% dont le bilan étiologique retrouve seulement un variant hétérozygote du gène *HFE* (p.Cys282Tyr) sans surcharge en fer mise en évidence à l'IRM. Le diagnostic d'hémochromatose cardiaque est infirmé.
L'examen ophtalmologique retrouve une atrophie optique bilatérale. L'audiogramme objective une surdité de perception bilatérale.
Le tableau systémique conduit à rechercher une origine génétique et devant l'antécédent familial de néphropathie kystique chez la grand-mère maternelle, la mère et la sœur, un séquençage du gène *PKD2* est réalisé, et retrouve le variant pathogène NM_000297.3:c.2182_2183del p.Leu729Alafs*10 chez l'ensemble des apparentés atteints. Devant l'atteinte cardiaque, la neuropathie optique et la surdité du patient, une pathologie mitochondriale associée est recherchée. Le séquençage complet de l'ADNmt par NGS met en évidence le variant pathogène m.13513G>A dans le gène *MT-ND5* à l'état hétéroplasmique minoritaire dans les urines, la salive et le sang (respectivement à 38, 21 et 19%) et majoritaire dans la biopsie rénale (70%). Ce variant pathogène est absent chez la sœur et la mère du patient.
L'absence de défaillance rénale chez la sœur, mère et grand-mère (> 70 ans), porteuses du variant de *PKD2*, rend l'implication de celui-ci peu probable dans l'insuffisance rénale du patient. Le variant pathogène m.13513G>A décrit notamment au cours de syndrome de MELAS, d'atrophie optique et de syndrome de Wolff-Parkinson-White paraît chez le patient être aussi responsable de son tableau rénal. Notre description élargit le champ phénotypique de ce variant pathogène du gène *MT-ND5* aux néphropathies débutant à l'âge adulte.

Abstract FFGH définitif MT-ND5.docx

P549 : Description d'une nouvelle dysplasie ectodermique en mosaïque causée par des mutations post-zygotiques de RHOA

Auteurs :

Arthur Sorlin (1, 2), Pierre VABRES (3, 4), Stanislav S Kholmanskikh (5), Bénédicte Demeer (6), Judith SAINT-ONGE (4), Yannis DUFFOURD (4, 2), Paul KUENTZ (4), Jean-Benoit Courcet (7), Virginie Carmignac (4, 2), Didier Bessis (8), Odile Boute (9), Alain Bron (10), Guillaume Captier (11), Esther Carmi (12), Sophie Dalac (13), Bernard Devauchelle (14), David Geneviève (15), Catherine Gondry-Jouet (16), Laurent Guibaud (17), Arnaud Lafon (18), Michèle Mathieu-Dramard (6), Julien Thevenon (1, 2), William B Dobyns (19), Geneviève Bernard (20), Satyamaanasa Polubothu (21), Francesca Faravelli (21), Veronica A Kinsler (21), Laurence FAIVRE (22, 2), M Elizabeth Ross (5), Jean-Baptiste RIVIERE (4)

1. Service de Génétique Médicale, CHU Dijon Bourgogne, Dijon, France
2. Fédération Hospitalo-Universitaire Médecine Translationnelle et Anomalies du Développement, CHU Dijon Bourgogne, Dijon, France
3. Service de Dermatologie, CHU de Dijon, Dijon, France
4. INSERM 1231, Génétique des Anomalies du Développement, Université Bourgogne-Franche Comté, Dijon, France
5. Center for Neurogenetics, Feil Family Brain and Mind Research Institute, Weill Cornell Medicine, New York, Etats-Unis
6. Unité de Génétique Médicale et Oncogénétique, CHU Amiens Picardie, Amiens, France
7. INSERM 1231, Génétique des Anomalies du Développement, Université Bourgogne Franche Comté, Dijon, France
8. Département de Dermatologie, CHU de Montpellier, Montpellier, France
9. Service de Génétique Clinique, CHU Lille, Lille, France
10. Service d'Ophtalmologie, CHU Dijon Bourgogne, Dijon, France
11. Service de Chirurgie orthopédique et plastique pédiatrique, CHU de Montpellier, Montpellier, France
12. Département de Dermatologie, CHU Amiens Picardie, Amiens, France
13. Service de Dermatologie, CHU Dijon Bourgogne, Dijon, France
14. Département de Chirurgie Maxillo-Faciale et Stomatologie, CHU Amiens Picardie, Amiens, France
15. Département de Génétique Médicale, Maladies rares et Médecine Personnalisée, CHU de Montpellier, Montpellier, France
16. Départment de Radiologie, CHU Amiens Picardie, Amiens, France
17. Service d'Imagerie Pédiatrique et Fœtale, Hôpital Femme Mère Enfant, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
18. Service d'Odontologie-Stomatologie, CHU Dijon Bourgogne, Dijon, France
19. Center for Integrative Brain Research, Seattle Children's Research Institute, Seattle, Etats-Unis
20. Department of Medical Genetics, Montreal Children's Hospital, McGill University Health Centre, Montreal, Canada
21. Institute of Child Health, University College, London, Royaume Uni
22. Service de Génétique Médicale, CHU de Dijon, Dijon, France

Mots clefs : Mosaique, Exome, RHOA, dysplasie ectodermique, pigmentation cutanée

Résumé :

L'hypomélanose d'Ito est définie par l'association d'une hypopigmentation qui suit les lignes de Blaschko et de manifestations principalement neurologiques. Les autres atteintes associées sont variables. Elle peut être associée à diverses anomalies chromosomiques en mosaïque, ou à des mutations MTOR lorsqu'elle s'associe à une hémimégalencéphalie. Nous rapportons un nouveau syndrome clinique avec hypomélanose d'Ito et atteinte neuroectodermique en lien avec des mutations postzygotiques de RHOA.
Dans le cadre de la cohorte M.U.S.T.A.R.D. (Mosaic Unknown Skin Traits And Related Disorders), nous avons étudié 5 patients par séquençage haut débit de l'exome complet ou ciblé, sur peau atteinte et dans le sang.
Les 5 patients, non apparentés, présentaient tous une hypopigmentation ou une hypotrichose linéaire, associée à une atteinte faciale bilatérale ou unilatérale (hypoplasie malaire, élargisssement de la pyramide nasale), malformations dentaires avec dysplasie de l'émail, doigts et orteils courts, atteinte oculaire avec choroïdose myopique. L'IRM réalisée chez 3 patients a montré une leucoencéphalopathie asymptomatique avec hypersignal de la substance blanche et dilatation des espaces de Virchow.
Chez les deux premiers patients, le séquençage de l'exome en profondeur (144X à 228X) sur peau atteinte a identifié une même mutation en mosaïque p.Glu47Lys du gène RHOA, confirmée par séquençage ciblé (taux allélique : 33,5% et 23,1%), absente du sang. Cette mutation a également été identifiée par séquençage ciblé chez deux des autres patients ayant un phanotype similaire. Le cinquième patient était porteur d'une autre mutation postzygotique de RHOA, Pro71Ser, identifiée par séquençage de l'exome. La transfection de plasmides porteurs de ces mutations de RHOA dans des cellules NIH 3T3 en culture a montré une diminution de l'étalement cellulaire, de la formation de fibre de stress, et de la phosphorylation des effecteurs de RhoA, MYPT1 et MLC2, suggérant un effet dominant-négatif de ces mutations.
Nous avons identifié une affection neuroectodermique jamais décrite à notre connaissance, causée par des mutations en mosaïque de RHOA, qui code la protéine RhoA, une petite GTPase de la superfamille Ras, impliquée dans le chimiotactisme, le

guidage axonal, et le contrôle du cycle cellulaire. En plus des anomalies fonctionnelles mises en évidence, la forte conservation de la séquence de RHOA au cours de l'évolution est en faveur du caractère pathogène des mutations identifiées.
Cette dysplasie ectodermique en mosaïque liée à RHOA s'ajoute aux syndromes causés par des mutations létales, pour lesquelles la survie embryonnaire n'est possible que par mosaïcisme. Il s'agit d'une de premières caractérisations moléculaires d'un mosaïcisme pigmentaire, qui souligne l'importance de RHOA dans le développement cutané.

RÉSUMÉ RHOA Sorlin Assises 2018.docx

P550 : Corrélations phénotype – génotype d'une cohorte de 140 cas de dysplasie thoracique asphyxiante (DTJ) / polydactylie de type III (CCPIII)

Auteurs :

caroline Michot (1), celine huber (2), Kim Hanh Le Quan Sang (3), Arnold Munnich (3), Geneviève Baujat (3), Valérie Cormier-Daire (3)

1. Genetics Department, INSERM UMR1163, Paris Descartes-Sorbonne Paris Cité University, Necker-Enfants Malades Hospital, Imagine Institute, paris, France
2. Genetics Department, INSERM UMR1163, Paris Descartes-Sorbonne Paris Cité University, Necker-Enfants Malades Hospital, Institut IMAGINE, paris, France
3. Genetics Department, INSERM UMR1163, Paris Descartes-Sorbonne Paris Cité University, Necker-Enfants Malades Hospital, Institut IMAGINE, Paris, France

Mots clefs : dysplasie thoracique asphyxiante, polydactylie de type III, DYNC2H1

Résumé :

Le syndrome côtes courtes polydactylie de type III (CCPIII) et la dysplasie thoracique asphyxiante (DTJ) sont une même entité du groupe des ciliopathies squelettiques, allant d'une forme fœtale sévère à la DTJ compatible avec la vie, qui se caractérise par un thorax étroit et des membres courts. Le pronostic de la DTJ est d' abord lié à la sévérité de l'atteinte respiratoire puis à l'apparition possible d'atteintes rénale, hépatique et rétinienne. À ce jour, des mutations dans 14 gènes ciliaires ont été rapportées comme responsables de DTJ /CCPIII.
Le but de notre étude est l'analyse clinique et moléculaire d'une cohorte de CCP III/DTJ afin d'établir des corrélations génotype-phénotype. Notre cohorte comprends 140 individus issus de 111 familles, 68 foetus SRPIII/ATD et 72 patients DTJ âgés de 1 à 43 ans. L'analyse par Ciliome (séquençage ciblé de 1221 gènes ciliaires) a permis d'identifier une base moléculaire pour 80% des cas (112/140). Nous avons réalisé une analyse par exome 18/ 28 avec un ciliome négatif, et identifié une base moléculaire pour 10/18, augmentant le rendement moléculaire à 87% (122/140).
Les mutations dans *DYNC2H1* sont la principale cause de ce spectre (89/122 = 73%). D'autres mutations impliquent des gènes connus, impliqués dans le transport antérograde ou rétrograde du cil: *IFT140* (4,9%), *WDR34* (2,4%), *WDR60* (1,6%), *TTC21B* (1,6%), *IFT172* (1,6%), *IFT80* (0,8%), *DYNC2LI1* (0,8%), *WDR19* (0,8%), *WDR35* (0,8%), *TCTEX1D2* (0,8%) et Nous avons également identifié une mutation dans *KIAA0753* (impliqué dans le syndrome orofacial) dans un cas vivant ATD. Nous avons finalement trouvé une mutation dans *KIF24*, un nouveau gène ciliaire, et dans *PIGN*, impliqué dans le syndrome de Fryns dans deux cas fœtaux.
Parmi les cas fœtaux liés à *DYNC2H1* (47/68) 69%, 11% (5/47) présentent des tubules rénaux dilatés et 4% (2/47) des espaces de porte hépatique anormaux. En revanche, 50% (6/12) des fœtus avec des mutations dans d'autres gènes présentent des kystes rénaux et/ou une dysplasie glomérulaire et 33% (4/12) un foie anormal.
Pour les 72 DTJ vivants, 58% (42/72) ont des mutations *DYNC2H1*. 24% (10/42) sont décédés d'une détresse respiratoire. Aucun patient ne présente de dysfonctionnement rénal grave; seule 1 cas présente une cholestase précoce avec une fibrose hépatique. L'ERG est anormal chez 6/10.
Parmi les 22 DTJ liés à des mutations dans d'autres gènes ciliaires, 9% (2/22) sont morts d'une détresse respiratoire,13% (3/22) ont une atteinte (fibrose ou cholestase chronique), 27% (6/22) ont une atteinte rénale sévère.
En conclusion, des mutations dans *DYNC2H1* sont responsables de la majorité des cas de CCPIII/DTJ. Le pronostic respiratoire est péjoratif dans 16% des cas. Une surveillance rétinienne est nécessaire. Les atteintes rénales et hépatiques sont rares, contrairement aux DTJ non liés à *DYNC2H1*. Nos résultats suggèrent que le suivi médical peut être modulé en fonction de la base moléculaire.

P551 : Aspects cliniques et moléculaires de trois familles marocaines avec acidose tubulaire rénale distale et surdité: identification d'une nouvelle mutation du gène ATP6V1B1

Auteurs :

lamiae boualla (1), Wafaa Jdioui (2), Kenza Soulami (3), Ilham Ratbi (1), Abdelaziz Sefiani (4)

1. Département de génétique médicale, Centre de génomique humaine, Faculté de médecine et de pharmacie, université Mohammed V Souissi, Rabat., Rabat, Maroc
2. Département de génétique médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Rabat, Maroc
3. , , casablanca, Maroc
4. , , Rabat, Maroc

Mots clefs : Gène ATP6V1B1, Acidose Tubulaire Rénale, Surdité neurosensorielle, Marocains, Autosomique récessive, 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, néanmoins des cas d'acidose tubulaire avec surdité précoce ont été décrits également chez des patients porteurs d'une mutation du gène *ATP6V0A4.*
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 cet article 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.
Mots clés : Gène *ATP6V1B1*, Acidose Tubulaire Rénale, Surdité neurosensorielle, Marocains, Autosomique récessive, Mutation**.**

Abstract acidose tubulaire rénale assises de genetique.docx

P552 - DPC : Evaluation d'un programme de structuration du parcours des patients atteints d'hypercholestérolémie familiale hétérozygote (HF) mis en place dans les départements de la Loire Atlantique et de la Vendée

Auteurs :

Martin BLACHIER (1), Margaux DOVA-BOIVIN (2), Mélanie BERARD (3), Isabelle REVOL (4), Bertrand CARIOU (3), Michel KREMPF (5), Matthieu PICHELIN (3), Matthieu WARGNY (3)

1. Public Health Expertise, Public Health Expertise, PARIS, France
2. AMGEN SAS (France), AMGEN SAS (France), BOULOGNE, France
3. CIC Endocrinologie Nutrition, CHU Nord Laënnec, NANTES, France
4. Médiation Conseil Santé, Médiation Conseil Santé, PARIS, France
5. Endocrinologie Nutrition, CHU Nord Laënnec, NANTES, France

Mots clefs : Hypercholestérolémie familiale, dépistage, maladie cardiovasculaire, génétique, programme pilote

Résumé :

Introduction : L'hypercholestérolémie familiale (HF) est sous-diagnostiquée et sous-traitée alors qu'elle est associée à un sur-risque de maladies cardiovasculaires et une mortalité 6 fois plus élevée que dans la population générale. Le diagnostic, suspecté sur des données cliniques et/ou biologiques, peut être confirmé par l'identification d'anomalies génétiques. Un programme a été mis en place au CHU de Nantes et dont l'objectif était d'améliorer le repérage et l'optimisation de la prise en charge des patients atteints d'HF. Nous rapportons l'organisation de ce programme et sa première évaluation.
Méthode : Une réflexion transversale impliquant 30 professionnels de santé et des patients, a permis d'élaborer un plan d'actions déployé dans 2 départements (Loire Atlantique et Vendée) à partir d'août 2015. Les actions incluent la mise en place d'une alerte spécifique par les biologistes (médecins ou pharmaciens) à l'existence possible d'une HF sur les bilans biologiques des patients dont les taux de LDL-C sont > 1,9 g/L. Les médecins (généralistes, endocrinologues et cardiologues) et les autres acteurs de santé des 2 départements pilotes ont reçu un courrier d'information présentant les actions du programme et une proposition de parcours-patient type. Une conseillère en génétique en charge des enquêtes familiales avec les patients et du dépistage en cascade a été recrutée. Une étude longitudinale de type avant-après a été conduite sur les données du registre national de l'hypercholestérolémie familiale. La période de 15 mois avant la mise en place du programme a été comparée à la période de 15 mois suivant la mise en place du programme. Les patients analysés sont les patients diagnostiqués au CHU de Nantes au cours des deux périodes d'observation.
Résultats : L'évaluation sur 30 mois a porté sur 169 patients. Une hausse de 70% du nombre de nouveaux diagnostics réalisés au CHU de Nantes a été observée suite à la mise en place du programme (p=0,003) ; soit 43 patients qui n'auraient pas été diagnostiqués sans le programme. Si l'on considère uniquement les cas apparentés, le nombre de nouveaux diagnostics a été triplé (de 10 à 33 patients, p = 0,007). La proportion de cas apparentés au sein des nouveaux patients dans le service est passée de 15,9% à 30,3% (p=0,04). L'intervalle de temps entre deux consultations pour les patients suivis s'est réduit de 5,6 mois à 4,3 mois et était associé à un meilleur contrôle du LDL-C (-0,71 g/L entre les deux périodes, p=0,01).
Conclusion : Le programme a permis d'augmenter significativement le nombre de nouveaux diagnostics réalisés au CHU de Nantes. L'augmentation était particulièrement importante parmi les cas apparentés. Le bénéfice du programme semble également se traduire par un meilleur contrôle du LDL-C. Bien que la prise en charge des patients ait été globalement optimisée, certains leviers d'amélioration comme le relais ville-hôpital ont été identifiés.

Abstract_Congrès NSFA_V4.pdf

P553 : Les souris CHCHD10Ser59Leu/+ : un nouveau modèle de Sclérose Latérale Amyotrophique (SLA) secondaire à un dysfonctionnement mitochondrial ?

Auteurs :

Emmanuelle C GENIN (1), Alessandra Mauri-Crouzet (2), Françoise LESPINASSE (1), Sandra LACAS-GERVAIS (3), Baptiste Ropert (2), Sylvie BANNWARTH (4), Konstantina FRAGAKI (4), Gaëlle AUGE (4), Charlotte Cochaud (5), Véronique PAQUIS-FLUCKLINGER (4)

1. IRCAN, Université de Nice Sophia-Antipolis, Nice, France
2. Université Côte d'Azur, IRCAN, UMR CNRS 7284/INSERM U1081, Nice, France
3. Joint Center for Applied elctron microscopy, Université de Nice Sophia-Antipolis, Nice, France
4. Service de Génétique Médicale, CHU Nice, Nice, France
5. Service de Génétique, CHU Archet 2, Nice, France

Mots clefs : CHCHD10, SLA/DFT, modèle murin

Résumé :

La sclérose latérale amyotrophique (SLA) est une maladie neurodégénérative caractérisée par une paralysie musculaire progressive due à une dégénérescence des motoneurones. Nous avons récemment apporté la preuve génétique qu'un dysfonctionnement mitochondrial peut être à l'origine d'une dégénérescence des motoneurones avec l'identification du gène *CHCHD10* (S. Bannwarth *et al.*, Brain, 2014 – A. Chaussenot et al., Neurobiol. Aging, 2014). Le premier variant pathogène *CHCHD10*^{Ser59Leu} a été identifié, par séquençage d'exome, dans une famille qui présentait un phénotype complexe de myopathie mitochondriale avec instabilité de l'ADNmt, associée à une atteinte du motoneurone, une démence et une ataxie cérébelleuse. Ce gène a également été impliqué dans plusieurs maladies neurodégénératives (Démence Fronto-Temporale (DFT), myopathie mitochondriale de début précoce ou maladie de Charcot-Marie-Tooth (CMT2A). Nous avons montré que *CHCHD10* code pour une protéine mitochondriale qui interagit avec MICOS, complexe multi-protéique impliqué dans le maintien des crêtes mitochondriales (EC Genin *et al.*, EMBO Mol Med, 2016).
Nous avons généré un modèle murin « knock-in » pour tenter de comprendre comment la mutation *CHCHD10*^{Ser59Leu} conduit à la mort des motoneurones. Les premiers résultats obtenus montrent que les animaux hétérozygotes pour la mutation sont viables. A partir de l'âge de 3 mois, ils présentent un déficit pondéral significatif comparé aux animaux sauvages. A 3 mois, les souris présentent un déficit de la chaîne respiratoire mitochondriale dans le muscle et le cerveau. Entre 6 et 10 mois, les animaux hétérozygotes développent des signes neurologiques (tremblements, troubles de l'équilibre) associés à une perte de poids rapide évoquant une SLA. A ce stade, on retrouve un déficit généralisé de la chaîne respiratoire dans le muscle avec une diminution significative du nombre de copies d'ADNmt et une morphologie des mitochondries anormale, en microscopie électronique, avec perte des crêtes mitochondriales. Les analyses en cours concernant le nombre, la survie des motoneurones, les jonctions neuromusculaires et les mécanismes de mort impliqués doivent permettre de comprendre l'impact du défaut mitochondrial observé sur la dégénérescence neuronale dans le but de développer des stratégies thérapeutiques spécifiques.

EC Genin et al-Assises 2018.docx

P554 - DPC : De nouveaux gènes de prédisposition à la cardiomyopathie dilatée identifiés par association génétique exome entier (Exome-WAS)

Auteurs :

Ulrike Esslinger (1), Sophie Garnier (1), Agathe Korniat (1), Carole Proust (1), Claire Perret (2), Boutouyrie Pierre (3), Jean-Philippe Empana (3), Xavier Jouven (3), Patrick Lacolley (4), Richard Isnard (5), Michel Komajda (1), David-Alexandre Tregouet (1), Philippe Charron (1), François Cambien (1), Eric Villard (1)

1. UMRS 1166, INSERM, Paris, France
2. UMRS 1166, INSERM, paris, France
3. UMRS 970, Departement d'épidémiologie, INSERM, Paris, France
4. UMRS 1116, INSERM, Nancy, France
5. UMRS 1116, INSERM, Paris, France

Mots clefs : Cardiomyopathie, Insuffisance Cardiaque, Etude d'association, protéostasie

Résumé :

La cardiomyopathie dilatée (CMD) à une forte composante génétique et est une cause importante d'insuffisance cardiaque chez l'homme. Nous avons conduit une étude d'association génétique utilisant une puce de génotypage de l'exome humain pour déterminer la contribution du polymorphisme des variants non-synonymes à la CMD sporadique.
Nous avons analysé 116 855 variants de nucléotide simple (SNVs) chez 2796 patients CMD et 6877 sujets contrôles provenant de 6 populations européennes d'origines géographiques différentes. Par méta-analyse (FDR Q-value < 0.01), nous avons confirmé l'association avec la CMD de 2 loci précédemment identifiés centrés sur *BAG3* et *ZBTB17* et nous rapportons six nouveaux loci dans les gènes *TTN*, *SLC39A8*, *MLIP*, *FLNC*, *ALPK3* et *FHOD3* pour lesquels les SNVs non-synonymes associés à la CMD sont fréquents (MAF > 0.08). L'analyse d'association fine par imputation *in silico* et des mesures d'interaction protéique avec BAG3 indiquent que *HSPB7* serait le gène responsable au locus *ZBTB17*. Dans les gènes associées, l'analyse des variants rares collectivement (MAF < 0.01; analyse SKAT) au niveau génique révèle une association des SNVs du seul gène *TTN* (P=0.0085). Dans la base d'expression GTEx tous les gènes candidats aux loci associés sauf un (SLC39A8) présentent une expression préférentielle dans le coeur et muscle squeletique. De plus des mutations des gènes TTN, BAG3, FLNC et FHOD3 sont décrites comme responsables de formes familiales de CMD. Plusieurs de ces gènes candidats partagent également un rôle structurel et fonctionnel suggérant que l'homéostasie sarcomérique est une fonction majeure de protection contre le développement de la CMD.
En conclusion, nous avons identifié 8 loci associés indépendamment à la CMD sporadique. Le chevauchement de la liste de gènes de prédisposition identifiée ici avec celle des gène responsable de formes familiale indique, pour chaque gène, un continuum de pénétrance des variants moléculaires associés avec la CMD. Les fonctions connues de plusieurs des gènes de prédisposition suggèrent que la fonction protéostasique est centrale dans la physiopathologie de la CMD.

P555 : Quelle est la meilleure stratégie pour le diagnostic moléculaire des maladies mitochondriales dans la population pédiatrique ?

Auteurs :

Giulia Barcia (1), Zahra Assouline (1), Marlène Rio (1), Sophie Rondeau (1), Maryse Magen (1), sylvain hanein (2), cécile fourrage (1), benedetta ruzzenente (2), metodi metodiev (2), Christine Bole-Feysot (2), Patrick Nitschke (2), Nathalie Boddaert (3), Desguerre Isabelle (4), Arnold Munnich (5), Jean-Paul Bonnefont (1), Agnes Rötig (2), Julie Steffann (1)

1. Génétique Médicale, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France
2. Institut Imagine, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France
3. Neuroradiologie, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France
4. Neuropédiatrie, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France
5. Génétique Médicale, Hôpital Necker Enfants Malades, paris, France

Mots clefs : Maladies mitochondriales, NGS

Résumé :

Introduction : Les maladies mitochondriales (MM) constituent un groupe cliniquement et génétiquement hétérogène de pathologies rares dues à des mutations de gènes nucléaires ou mitochondriaux qui provoquent un dysfonctionnement de la chaîne respiratoire mitochondriale (CRM). L'incidence globale des MM est estimée à 1/4000 naissances (200 nouveaux patients/an en France). Cliniquement les MM de l'enfant sont caractérisées par un phénotype plus sévère et une atteinte cérébrale plus fréquente que les MM de l'adulte.
Méthodes : Nous avons étudié 277 patients recrutés en fonction de critères cliniques, biochimiques, métaboliques, histologiques et/ou neuroradiologiques évocateurs d'une MM. Une étude par NGS ciblé sur 212 gènes nucléaires a été réalisée chez 211 patients, par séquençage ciblé de l'ADN mitochondrial (ADNmt) chez 134 patients, et par séquençage d'exome chez 109 patients. Nos objectifs étaient d'évaluer 1) la pertinence du séquençage à haut débit ciblé ou du séquençage d'exome en fonction du phénotype 2) les critères d'inclusions prédictifs d'un diagnostic moléculaire positif.
Résultats : Nous avons identifié des variants pathogènes chez 47% des patients. La rentabilité diagnostique était de 32% en cas de NGS ciblé des gènes nucléaires, 48% par séquençage d'exome, et 7% par NGS de l'ADNmt. Le séquençage ciblé a permis la détection de délétions/duplication exoniques chez 8 patients dont 3 avec un séquençage d'exome négatif. Chez 8 patients, le séquençage d'exome a permis l'identification d'une mutation dans un gène non impliqué dans la fonction mitochondriale. Le pourcentage de diagnostic était de 63% (NGS ciblé) et 71% (exome) chez les patients satisfaisants au moins 4 critères d'inclusion. L'hyperlactatémie, les anomalies d'assemblage et les anomalies enzymatiques de la CRM étaient les meilleurs critères prédictifs de l'identification d'une base moléculaire avec un diagnostic établi chez respectivement 58%, 62% et 45% des patients.
Conclusions: Nous avons obtenu un rendement diagnostic global de 47% dans une cohorte de 277 patients atteints de MM à début dans l'enfance, étudiés par séquençage à haut débit. Les places respectives du NGS ciblé et du WES demeurent sujettes à débat dans la mesure où 1) la rentabilité diagnostique du WES est plus élevée mais 2) le NGS ciblé permets d'identifier de délétions/duplications et de s'affranchir de la détection de données incidentes ou non sollicitées. Chez les patients présentant plusieurs critères évocateur d'une maladie mitochondriale, en particulier une augmentation de l'acide lactique et/ou un dysfonctionnement de la chaîne respiratoire mitochondriale, le séquençage ciblé des gènes nucléaires peut être choisi en première intention au vu d'un rendement diagnostic élevé.

P556 - DPC : Accident vasculaire cérébral (AVC) ischémique sur cardiomyopathie restrictive de l'enfant secondaire à une mutation de TNNI3

Auteurs :

Diana Pastor-Harper (1), Elise Brischoux-Boucher (2), Gilles Millat (3), Michel Fardeau (4), Jean-Marie Cuisset (5), Antoinette Gelot (6), Joanna Belleville (1), Caroline Pâris (1), Lionel Van Maldergem (2), Daniel Amsallem (1)

1. Service de neuropédiatrie, CHRU Minjoz, Besançon, Besançon, France
2. Centre de génétique humaine, CHRU St Jacques, Besançon, Besançon, France
3. Laboratoire de cardiogénétique, CHU Lyon, Lyon, France
4. Institut de myologie, CHU Pitié-Salpêtrière, Paris, France
5. Service de neuropédiatrie, CHRU Lille, Lille, France
6. Service de neuropathologie, CHU Armand Trousseau, Paris, France

Mots clefs : cardiomyopathie, TNNI3, métabolisme

Résumé :

Le gène codant la Troponine I cardiaque (*TNNI3*) est exclusivement exprimé dans le tissu musculaire cardiaque. Certaines mutations de ce gène peuvent être responsables de cardiopathies restrictives idiopathiques (CMRi). La CMRi est une pathologie rare chez le jeune enfant. Son pronostic est sévère, la greffe cardiaque constituant souvent l'unique perspective thérapeutique. Il s'agit d'un garçon qui a présenté à l'âge de 4 ans un AVC ischémique sylvien droit. Le bilan étiologique a permis de diagnostiquer une CMRi emboligène. Dans ses antécédents on note des infections à répétition et un retard de croissance pondérale. L'examen clinique indique, en dehors des signes neurologiques séquellaires de l'AVC à type d'hémiparesie gauche, une voix nasonnée et une faiblesse musculaire bilatérale. La biopsie musculaire montre une surcharge lipidique et un fonctionnement normal de la chaîne respiratoire mitochondriale. L'étude ultra-structurale en microscopie électronique de la peau est normal. Le séquençage d'un panel de gènes de cardiomyopathies a mis à jour la présence d'une mutation faux-sens hétérozygote p.Lys206Glu (c.616A > G) de *TNNI3*, survenue de novo, très probablement pathogène, quoique non-décrite dans les bases de données (classe 4). Ce type de cardiomyopathie restrictive est très rare chez le jeune enfant et de pronostic réservé. Cette observation clinique souligne la difficulté d'interprétation d'une image musculaire de surcharge lipidique qui peut évoquer, dans le cadre du bilan d'une hypotonie globale et de parésie des membres, l'existence d'une erreur innée du métabolisme des graisses. Finalement, une telle image s'avère plutôt secondaire à l'administration de lipides chez un enfant dénutri, que liée à l'atteinte d'une protéine structurale du myocarde, la troponine I de type 3.

P557 : Efficacité du panel NGS génodermatoses sur 121 patients

Auteurs :

Caroline Alby (1), Sabine Duchatelet (2), Sylvain Hanein (3), Snaigune Miskinyte (2), Cécile Fourrage (4), Elodie Tron (4), Matthias Titeux (2), Nathalie Pironon (5), Christine Bole (6), Emmanuelle Bourrat (7), Arnold Munnich (8), jean-paul bonnefont (4), Alain Hovnanian (9)

1. INSERM U1163, Institut Imagine, Paris, France
2. Laboratoire des maladies génétiques cutanées, INSERM UMR1163, Université Paris Descartes-Sorbonne Paris Cité, , Institut Imagine, Paris, France, paris, France
3. Laboratoire de génomique translationnelle,, Institut Imagine, Paris, France, paris, France
4. Département de Génétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Assistance Publique - Hôpitaux de Paris, Paris, France, Hôpital Necker-Enfants Malades, paris, France
5. Laboratoire des maladies génétiques cutanées, INSERM UMR1163, Université Paris Descartes-Sorbonne Paris Cité, Institut Imagine, Paris, France, Institut Imagine, Paris, France, paris, France
6. - Plateforme de Génomique, Université Paris Descartes Sorbonne Paris Cité, Institut Imagine, Paris, France, Institut Imagine, paris, France
7. Service de Dermatologie, Hôpital Saint-Louis, Assistance Publique - Hôpitaux de Paris, Paris, France, Hôpital Saint-Louis, paris, France
8. Génétique et INSERM U1163, Necker-Enfants Malades et Institut Imagine, Paris, France
9. Département de Génétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, Assistance Publique - Hôpitaux de Paris, Paris, France et Laboratoire des maladies génétiques cutanées, INSERM UMR1163, Université Paris Descartes-Sorbonne Paris Cité, Institut Imagine, Paris, France, Institut Imagine, Paris, France, paris, France

Mots clefs : panel NGS ciblé génodermatoses épidermolyses bulleuses héréditaires ichtyoses anomalies de kératinisation

Résumé :

Les génodermatoses constituent un groupe hétérogène d'affections souvent dévastatrices de la peau. Les techniques récentes de séquençage nouvelle génération constituent un outil précieux à visée diagnostique. Le panel NGS ciblé « génodermatoses » centré sur les épidermolyses bulleuses héréditaires, les ichthyoses et anomalies de la kératinisation, permet une optimisation de la couverture du nombre élevé des gènes impliqués. Il permet en particulier une analyse rapide et moins coûteuse des gènes de grande taille tels *COL7A1 et ABCA12*, et répond aux difficultés liées au caractère génétiquement hétérogène de ces entités cliniques.
Le panel a été conçu d'après les données les plus récentes de la littérature. Il comprend 90 gènes. Les amplicons sont séquencés sur HiSeq (Illumina) après capture par kit Sure-Select personnalisé (Agilent). L'annotation et l'analyse des variants sont réalisées par une interface informatique développée à l'Institut Imagine (PolyWeb).
Nous rapportons l'analyse à l'aide de ce panel, de 121 patients atteints des entités cliniques suivantes : épidermolyses bulleuses (EB) comprenant EB simples, EB jonctionnelles et EB dystrophiques dominantes et récessives : 35 patients (29%); troubles de kératinisation : 52 patients (43%) comprenant principalement le syndrome de Netherton (25 patients) et les ichtyoses lamellaires (25 patients); ichtyoses épidermolytiques et kératodermies palmo-plantaires : 8 patients (7%) ; maladie de Darier et maladie de Hailey-Hailey : 23 patients (19%) ; maladie de Dowling-Degos : 3 patients (2%).
Le rendement diagnostic est de 88%. Ce résultat souligne la performance de l'analyse par NGS sur panel ciblé dans cette thématique. Elle a permis en particulier la détection de délétions géniques, mono ou multiexoniques, et de mosaïques mutationnelles, du fait d'une bonne profondeur de lecture. Ces résultats sont rendus possibles grâce à une expertise clinique et une prise en charge multidisciplinaire comprenant cliniciens, biologistes et chercheurs.

Abstract assises Panel Genodermatoses CA-revAH-ca-9oct 2018-18h30.docx

P558 : La myopathie à agrégats tubulaires et le syndrome de Stormorken sont dus à des mutations des régulateurs de l'homéostasie calcique CASQ1, STIM1, et ORAI1

Auteurs :

Johann Böhm (1), Jocelyn Laporte (1)

1. , IGBMC, Strasbourg, France

Mots clefs : myopathie à agrégats tubulaires, Stormorken, calcium, STIM1, ORAI1, CASQ1

Résumé :

La myopathie à agrégats tubulaires (TAM) est caractérisée par des accumulations membranaires anormales dans les fibres musculaires. Âge de début et sévérité de la maladie sont hétérogènes et peuvent aller d'une faiblesse musculaire prononcée et des rétractions dès l'enfance à une myopathie tardive et peu progressive impliquant essentiellement myalgies et crampes. Certains patients présentent une clinique multi-systémique appelée syndrome de Stormorken associant une TAM avec myosis, thrombocytopénie, asplénie, ichtyose, petite taille, et dyslexie. Des agrégats tubulaires s'accumulent par ailleurs dans le muscle normal avec l'âge.
A travers le séquençage haut-débit, nous avons identifié trois gènes de TAM/syndrome de Stormorken: *STIM1*, *ORAI1*, et *CASQ1*, tous régulant l'homéostasie calcique. Le calcium est un facteur clé pour une multitude de fonctions cellulaires et induit notamment la contraction musculaire. Les polymères de calsequestrine (codée par *CASQ1*) sont capables de fixer de grandes quantités de calcium dans le réticulum, et l'évacuation du calcium vers le cytoplasme induit un changement de conformation du senseur de calcium STIM1, qui oligomérise et active le canal calcique ORAI1 afin de déclencher l'entrée de calcium extracellulaire. Ce mécanisme est appelé SOCE (store-operated calcium entry).
L'impact des mutations dans *CASQ1*, *STIM1*, et *ORAI1* sur l'homéostasie calcique est démontré par des approches fonctionnelles: Nos études d'ultracentrifugation analytique et de turbidité ont montré que les mutations dans *CASQ1* perturbent la dynamique de polymérisation/dépolymérisation calcium-dépendante de la calséquestrine, et l'expression des mutants de STIM1 dans des myoblastes induit l'oligomérisation constitutive de STIM1 et amplifie l'activation du canal ORAI1. En conséquence, nous avons mesuré des taux de calcium élevés dans le cytoplasme des myoblastes des patients. L'impact des mutations dans *ORAI1* dépend de leur localisation. Les mutations dans le domaine formant l'ouverture du canal provoquent une entrée permanente du calcium et sont associées à un phénotype plus sévère, alors que les mutations dans les domaines périphériques causent une sur-activation du canal uniquement en présence de STIM1, et sont associées à un phénotype modéré.
En conclusion, nous avons découvert trois gènes causatifs de la myopathie à agrégats tubulaires et du syndrome de Stormorken ainsi que la voie impliquée dans le développement de ces maladies. Nous démontrons pour la première fois la pathogénicité d'une sur-activation du SOCE, alors que la suppression de ce mécanisme induit une immunodéficience sévère. Notre travail améliore significativement le diagnostic moléculaire de ces maladies, et nos résultats fonctionnels suggèrent que les troubles de la régulation de l'homéostasie calcique sont à l'origine du dysfonctionnement musculaire et multi-systémique observé dans les patients, et ouvrent la voie aux développements thérapeutiques.

Assises2018_TAM.docx

P559 - DPC : Estimation de la fréquence des mutations de novo et des cas de mosaïque parentale dans le Syndrome d'Ehlers Danlos vasculaire

Auteurs :

Anne Legrand (1, 2), Magali Devriese (1), Christophe Simian (1), Annabelle Venisse (1), Jean-Michael Mazzella (1), Salma Adham (1), Michael Frank (1), Juliette Albuisson (1, 2), Xavier Jeunemaitre (1, 2)

1. Département de Génétique et Centre de Référence des Maladies Vasculaires Rares, Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris, France
2. U970, Paris Centre de Recherche Cardiovasculaire, INSERM, Paris, France

Mots clefs : Syndrome d'Ehlers Danlos vasculaire, mosaïque, COL3A1, mutation de novo

Résumé :

Le syndrome d'Ehlers-Danlos vasculaire (SEDv) est une maladie héréditaire due à des mutations du gène *COL3A1*. Les patients peuvent présenter des complications sévères telles que des anévrysmes et des dissections des artères de moyen calibre principalement, ainsi que des perforations d'organes creux.
La transmission du SEDv est presque toujours autosomique dominante, seuls quelques cas de mutations bi-alléliques ont été rapportés. La fréquence des mutations *de novo* a été estimée à 50% et celle des mosaïques *COL3A1* à 15% au sein de cas index (CI) sans antécédent familial évident (données issues de Genereviews). *A contrario*, seuls 5 cas de mosaïque *COL3A1* ont été décrits dans la littérature, laissant supposer que ce mécanisme serait plus rare.
L'objectif de cette étude rétrospective était d'évaluer au sein de la cohorte de patients dont le diagnostic de SEDv a été fait dans le Département de Génétique de l'Hôpital Européen Georges Pompidou, la fréquence des mutations *COL3A1 de novo* et celle des mosaïques somatiques parentales.
L'ADN leucocytaire des parents des CI (ayant une mutation *COL3A1*), ne portant pas la mutation familiale, a été amplifié par PCR puis les librairies ont été préparées à l'aide du kit Nextera XT DNA library Prep (Illumina) et séquencées sur Miseq (Illumina). L'ADN des CI a été séquencé en tant que témoin positif. L'analyse bio-informatique a été réalisée à l'aide de l'interface Polyweb (Plateforme de Bio-informatique de l'Université Paris Descartes).
En cas d'absence d'ADN parental, la notion d'une histoire familiale (HF+) a été considérée comme équivalente à une transmission parentale certaine, les signes et complications de la maladie étant relativement spécifiques en cas de 1er sujet atteint de SEDv.
Sur les 193 CI diagnostiqués au laboratoire, 95 avaient une HF+ dont 64 avec confirmation moléculaire. Parmi les 98 cas sporadiques, l'ADN des 2 parents était disponible pour 36 cas, d'un seul parent dans 18 cas, et non disponible dans les 44 autres cas. Parmi ces derniers, 32 étaient considérés comme HF-. Au sein des 36 cas avec 2 ADN parentaux, l'analyse en trio a montré un seul cas de mosaïque (n=1/36, 3%) chez un parent avec un ratio allélique de 18%. Cette mosaïque a été confirmée à 22% pour l'ADN salivaire. Au sein des 18 cas avec un seul ADN parental, aucun cas de mosaïque n'a été détecté. La profondeur moyenne des 90 (n=36x2+18=90) librairies était proche de 70000X.
En considérant une HF- suggestive d'une mutation *COL3A1 de novo*, la fréquence de ces mutations dans notre cohorte est bien de l'ordre de 50% (n=98-12/193-12=47,5%). De fait, parmi les 90 ADN parentaux analysés dans ce groupe HF-, aucun n'était porteur d'une mutation *COL3A1* à l'état hétérozygote. Nous n'avons détecté qu'un seul cas de mosaïque parentale, soit une fréquence de 1 à 3%, très inférieure à celle précédemment estimée. Ainsi, alors que les mutations *COL3A1 de novo* sont fréquentes, la présence d'une mosaïque parentale est un événement rare dans le SEDv.

Abstract_Mosaïque_Assises_Nantes_VF.docx

P560 : Stratégie diagnostique par séquençage haut débit des maladies mitochondriales : L'expérience du Centre de Référence Sud-CALISSON-Euro-NMD

Auteurs :

Morgane Plutino (1), Annabelle Chaussenot (2), Cécile Rouzier (2), Samira Ait-el-Mkadem (2), Konstantina Fragaki (1), Véronique Paquis-Flucklinger (2), Sylvie Bannwarth (2)

1. Service de génétique médicale, Hôpital Archet II, CHU de Nice, IRCAN, UMR CNRS 7284/INSERM U1081/UNS, Faculté de médecine, CHU de Nice, Nice, France
2. Service de génétique médicale, Hôpital Archet II, CHU de Nice, IRCAN, UMR CNRS 7284/INSERM U1081/UNS, Faculté de médecine, Nice, France

Mots clefs : Maladies mitochondriales, ADN mitochondrial, séquençage haut débit, panel, exome

Résumé :

Depuis l'avènement des nouvelles technologies de séquençage haut débit, le diagnostic moléculaire des maladies mitochondriales ne cesse d'évoluer. Plusieurs études ont été publiées dans la littérature pour comparer la stratégie diagnostique utilisant une approche par panels de gènes ciblés ou une approche par exome, mais il demeure délicat de les comparer. Une étude récente a analysé une cohorte de patients atteints de maladie mitochondriale en utilisant une approche combinée de séquençage haut débit, par panel de gènes ciblés et exome. Cette stratégie a permis d'identifier les variants pathogènes chez 15,2% des patients (Legati *et al.,* 2016). De plus, le nombre de nouveaux gènes responsables de pathologies mitochondriales augmente de manière rapide. Pour comparer le rendement diagnostique d'un panel de gènes ciblés *versus* celui d'un exome, nous avons analysé une cohorte de 80 patients (24 enfants et 56 adultes) explorés dans notre centre de référence des pathologies mitochondriales (CALISSON-Euro-NMD) du CHU de Nice, présentant des arguments cliniques, histologiques et/ou biochimiques en faveur et/ou des délétions multiples de l'ADN mitochondrial (ADNmt).
Premièrement, les patients suspects de maladie mitochondriale bénéficient d'un séquençage haut débit de l'ADNmt. Lorsque celui-ci s'avère négatif, un séquençage haut débit par panel de gènes ciblés est réalisé. Ce dernier est composé de 281 gènes nucléaires actuellement répertoriés dans la base du NIH Genetic Testing Registry. Cette approche nous a permis d'obtenir un taux d'identification de variant pathogène de l'ADN nucléaire de 20% chez les enfants et de 5,5% chez les adultes. Certains patients demeurant sans diagnostic bénéficient alors d'une analyse par exome.
Nos résultats montrent que si le séquençage haut débit par panel de gènes ciblés semble être une approche intéressante à visée diagnostique des maladies mitochondriales dans les cohortes pédiatriques, il devient discutable dans les cohortes de patients adultes, où le faible rendement pourrait conduire à proposer la prescription d'un exome en première intention. L'hétérogénéité génétique, la découverte incessante de nouveaux gènes impliqués dans la mitochondrie et les causes secondaires de déficit de la chaîne respiratoire compliquent le diagnostic de ces maladies et cette étude montre que cela nécessite d'adapter la stratégie diagnostique à l'âge des patients.

abstract assises panel-2.doc

P561 - DPC : Apport du NGS à l'analyse moléculaire de la maladie de Rendu-Osler

Auteurs :

Sophie GIRAUD (1), Sophie DUPUIS-GIROD (2), Céline AUBOIROUX (1), Béatrice CHAMBE (1), Odile BOUTE (3), Sylvie ODENT (4), Marion GERARD (5), Damien SANLAVILLE (1)

1. Service de Génétique, Hospices Civils de Lyon, Groupement Hospitalier Est, BRON, France
2. Service de Génétique et Centre de Référence pour la Maladie de Rendu-Osler, Hospices Civils de Lyon - Groupe Hospitalier Est, Lyon, France
3. Service de génétique clinique Guy Fontaine, CHRU de lille - Hôpital Jeanne de Flandre, Lille, France
4. Service de génétique clinique , CHU de rennes - Hôpital Sud, Rennes, France
5. Service de Génétique, CHU de Caen, CHR Clémenceau, Caen, France

Mots clefs : maladie de Rendu-Osler, NGS, malformation vasculaire

Résumé :

Objectif : Le diagnostic clinique de maladie de Rendu Osler (RO) repose sur plusieurs critères: la transmission autosomique dominante, les télangiectasies, les épistaxis et les malformations artérioveineuses viscérales. La maladie de RO est considérée comme certaine si trois de ces critères sont présents, probable en présence de deux critères et suspecte si un seul critère est présent. Les mutations des gènes *ENG* et *ALK1* sont responsables de 90% des cas cliniquement certains de maladie de Rendu-Osler, les mutations du gène *SMAD4* sont beaucoup plus rares et associent un phénotype de polypose juvénile. Les mutations de deux autres gènes *RASA1* et *GDF2* peuvent donner des phénotypes ressemblant à celui du RO.
Nous avons appliqué la technique de NGS (Next Generation Sequencing) au diagnostic moléculaire de la maladie de RO.

Méthodes : Nous avons designé les séquences cibles concernant toutes les régions exoniques et les régions introniques adjacentes de ces 5 gènes, ainsi que les régions promotrices des gènes *ENG* et *ACVRL1* avec le logiciel Sure design (Agilent technologies). Nous avons utilisé le procédé d'enrichissement SureSelect^{QXT} for Illumina Multiplexed et utilisé un séquenceur NextSeq 500. Nous avons analysé nos données à l'aide de deux logiciels NextGENe (SoftGenetics) et Papillyon développé par l'institution. Nous avons d'abord validé notre méthode en analysant 10 ADN porteurs de variants déjà identifiés puis analysés 217 patients adressés au laboratoire pour une indication de malaide de RO. Nous avons systématiquement recherché des grands réarrangements des gènes *ACVRL1*, *ENG* et *SMAD4* par MLPA.

Résultats : tous les 10 variants connus ont bien été reconnus par cette nouvelle technique, y compris un grand réarrangement de *ENG* et une mutation en mosaïque. Nous avons pu identifier 124 patients présentant un variant des gènes analysés, tous confirmés par séquençage Sanger: 65 avec un variant d'*ACVRL1*, 57 un variant de *ENG*, deux de *RASA1* et un de *SMAD4*. A noter que trois patients sont porteurs d'un variant dans le promoteur de ENG, pour 2 d'entre eux il s'agit du même variant déjà décrit comme pathogène, pour le 3° d'un variant de signification inconnue. Trois autres patients sont porteurs de délétion partielle de *ENG* détectées par NGS et MLPA. Aucun réarrangement supplémentaire n'a été mis en évidence par MLPA.
Chez 93 patients aucun variant n'a été mis en évidence mais le diagnostic n'est considéré comme certain que chez seulement 10 d'entre eux.

Conclusion : le NGS s'avère être une méthode sensible et rapide pour le diagnostic génétique de la maladie de RO, que ce soit pour la détection de mutation ponctuelle ou de grand réarrangement. Il nous permet de rendre un résultat d'emblée plus complet pour cette pathologie et de diminuer nos délais de rendu.

abstract assises 2018.doc

P562 - DPC : Intérêt d'un panel diagnostic étendu à 12 gènes dans la cardiomyopathie hypertrophique et restrictive : étude d'une cohorte préliminaire de 142 cas.

Auteurs :

Aurélie Mesnil (1), Karine Auribault (1), Annabelle Venisse (1), Albert Hagège (2), Jean-Michael Mazzella (1), Xavier Jeunemaître (1, 3), Juliette Albuisson (1, 3)

1. Service de Génétique, Hopital Européen Georges Pompidou, Paris, France
2. Service de cardiologie, Hopital Européen Georges Pompidou, Paris, France
3. INSERM UMR970, Paris-Centre de Recherche Cardiovasculaire, Paris, France

Mots clefs : Cardiomyopathie hypertrophique, séquençage nouvelle génération.

Résumé :

Introduction

La prévalence des cardiomyopathies hypertrophiques (CMH) est d'environ 1/500 dans la population générale. 5 gènes codant pour des protéines du sarcomère présentent des mutations considérées causales dans environ 56 % des cas[(1)]. Ils correspondent aux panels souvent utilisés en première intention dans le diagnostic génétique des CMH. Nous avons testé un panel de première intention étendu à 12 gènes, dont le rendement attendu est supérieur à 60 %[(2)]. L'objectif de ce panel est l'analyse des cas index atteints de CMH suivis à l'HEGP et le diagnostic des cardiopathies restrictives. Le panel de séquençage nouvelle génération Truseq Custom Amplicon Low Input, d'Illumina, mis au point au laboratoire, inclut 5 gènes sarcomériques majeurs : MYH7 (20 à 30 %), MYBPC3 (20 à 30 %), TPM1 (1 à 3 %), TNNT2 (3 à 5 %) et TNNI3 (3 à 5 %) auxquels s'ajoutent des gènes sarcomériques moins fréquemment impliqués: CSRP3 (< 1 %), MYL2 (1 %), MYL3 (1 %), ACTC1 (1 %) et LMNA (< 1%)[(2)]. 2 gènes non sarcomériques de cardiopathies restrictives complètent ce panel : GLA (1%)[(3)] et TTR (5%). Seuls les cas-index (N=142) ont été testés. L'analyse et l'interprétation des variants ont été réalisées avec les outils Seqnext (JSI), Polydiag (Institut Imagine), Alamut® (Interactive Biosoftwares) puis confirmées par séquençage Sanger.

Résultats et interprétation

L'âge moyen au diagnostic de la cohorte est de 41 ans (+/- 18 ans). 31% des patients présentent une variation pathogène et 10% une variation de signification inconnue (VSI), soit un rendement total de 41%. 23% des patients présentent une variation de MYBPC3 et 8% de MYH7, ce qui est inférieur au rendement attendu. Les autres gènes analysés ont un rendement diagnostic en cohérence avec les 1 à 5% décrits dans la littérature.
Les antécédents familiaux sont connus pour 128 patients. 26% des cas sporadiques (n=57) portent une variation, contre 55 % des patients avec antécédent familial au premier degré avéré (n=36), et 40% des patients avec antécédent familial du premier degré suspecté (n=30).
Le rendement du panel varie selon l'âge au diagnostic : maximal entre 21 et 40 ans (53%, n=45), plus faible chez les patients plus jeunes (0-20 ans: 43%, n=19), il baisse progressivement après 41 ans (41-60 ans: 37%, n=44; puis 61-80 ans 10%, n=20).
L'inclusion des gènes GLA et TTR a permis d'identifier un patient porteur d'une mutation TTR avec diagnostic de CMH.

Conclusion et perspectives

L'extension de 5 à 12 gènes permet une augmentation de 9% du rendement diagnostic. Ce résultat confirme l'intérêt de ce panel, notamment dans l'identification des rares formes de cardiopathies dont la prise en charge peut différer, comme la maladie de Fabry et l'amylose cardiaque.
Le taux de mutations identifiées de 41%, inférieur au taux attendu, pourrait être lié à un nombre élevé de cas sporadiques et de diagnostics tardifs. Le faible rendement de MYH7 n'est pas expliqué par les données cliniques et épidémiologiques de notre cohorte.

abstract-assises-2018 VF.docx

P563 : Analyse NGS haut débit du génome mitochondrial : Leçons et Perspectives, évolution vers une médecine mitochondriale personnalisée ?

Auteurs :

Céline Bris (1, 2), David Goudenège (1, 2), Valérie Desquiret - Dumas (1, 2), Naïg Gueguen (1), Sophie Belal (2), Guillaume Geffroy (2), Guy Lenaers (2), Dominique Bonneau (3, 2), Pascal Reynier (1, 2), Patrizia Bonneau (1, 2), Vincent Procaccio (1, 2)

1. Département de biochimie et génétique, CHU d'Angers, Angers, France
2. MITOVASC – Equipe MITOLAB UMR CNRS 6214 - INSERM 1083, Université d'Angers, Angers, France
3. Servide de génétique clinique et cytogénétique, CHU d'Angers, Angers, France

Mots clefs : ADN mitochondrial, Maladies mitochondriales, Séquençage haut-débit, Bioinformatique, Découvertes incidentelles, Variants de signification inconnue

Résumé :

Introduction :
Les maladies mitochondriales sont des pathologies fréquentes du métabolisme caractérisées par une forte hétérogénéité clinique et génétique. La double origine génétique des mitochondries, ADN nucléaire et ADN mitochondrial (ADNmt), et l'hétéroplasmie mitochondriale (coexistence de mitochondries mutées et normales) sont à l'origine de la complexité du diagnostic de ces maladies. Le développement des techniques de séquençage haut-débit (NGS) a révolutionné le diagnostic, avec la possibilité d'une analyse systématique de la totalité de l'ADNmt. Nous rapportons notre expérience NGS du séquençage total de l'ADNmt pour plus de 3000 échantillons.
Résultats :
Notre stratégie d'analyse de l'ADNmt permet la détection et la quantification des anomalies moléculaires de l'ADNmt avec une sensibilité estimée à 0,6% pour les variants ponctuels et 0,1% pour les grandes délétions. L'interprétation des variants s'appuie sur la base de données internationale Mitomap, dont la curation est assurée par le laboratoire, et sur une base de données interne regroupant les données générées à la fois en diagnostic et en recherche. Plusieurs challenges sont à relever:

1. **Détection de faibles taux de mutation:** L'identification des faibles taux de mutation participe à l'amélioration du diagnostic, notamment chez les apparentés. Cependant, l'évaluation de la pertinence clinique de ces faibles taux de mutation chez les cas index est complexe. Par exemple, la mutation m.3243A>G, responsable du syndrome MELAS, a été détectée à des faibles taux pour 17 patients sans lien phénotypique à l'exception d'un patient.
2. **Variants de signification inconnue (VOUS) :** L'analyse systématique de la totalité de l'ADNmt permet l'identification de VOUS pour 8% des ADN analysés. Cependant, la difficulté de l'analyse et la faiblesse des outils de prédiction in silico pour les variants de l'ADNmt rendent leur priorisation difficile.
3. **Découvertes incidentelles :** Nous avons également été confrontés à l'identification de mutations pathogènes mais n'étant pas en lien avec l'indication/phénotype du patient, comme la mutation m.1555A>G, associée à des surdités. Cette mutation peut être considérée comme «actionnable», car nécessitant un conseil génétique avisé, une éviction des facteurs de risques et des recommandations quant à la prise en charge.
4. **Analyse intégrative:** Actuellement, les stratégies d'analyses de l'ADNmt en diagnostic n'intègrent pas des informations comme l'haplogroupe mitochondrial ou les cooccurrences rares de variants qui pourraient parfois expliquer les différences phénotypiques observées pour une même mutation de l'ADNmt.

Perspectives:
Le séquençage total de l'ADNmt a permis d'améliorer le diagnostic des maladies mitochondriales, avec environ 15% de patients positifs, mais révèle également la nécessité du développement d'outils bioinformatiques dédiés à l'ADNmt et d'établir des recommandations pour une meilleure interprétation des données de l'ADNmt.

P564 : Mutation rare du gène LMNB2 chez une patiente présentant une lipodystrophie et une hypertriglycéridémie élevée

Auteurs :

CAMILLE DESGROUAS (1, 2), Damien GALANT (3), Nathalie BONELLO-PALOT (1, 4), Françoise Merono (1), Nicolas LEVY (3, 4), Patrice BOURGEOIS (1, 4), Sophie Béliard (5), René VALERO (5), Catherine BADENS (3, 4)

1. Génétique Médicale et Génomique Fonctionnelle, Aix-Marseille Université, Marseille, France
2. Laboratoire de Chimie Analytique, Aix Marseille Université, Marseille, France
3. Génétique Médicale et Génomique Fonctionnelle, Aix Marseille Université, Marseille, France
4. Laboratoire de Génétique Moléculaire, AP-HM, Marseille, France
5. Service d'endocrinologie, diabète et maladies métaboliques, AP-HM, Marseille, France

Mots clefs : Lamine B2, LMNB2, hypertriglycéridémie, diabète de type 2, lipodystrophie

Résumé :

Nous avons effectué une étude sur 22 patients présentant une lipodystrophie et/ou un diabète de type 2 sévère par séquençage haut débit sur un panel de gènes impliqués dans les lipodystrophies et laminopathies. Cette étude a permis de mettre en évidence une mutation hétérozygote rare du gène *LMNB2* codant pour la lamine B2, chez une patiente de 29 ans, présentant un diabète de type 2 diagnostiqué à 26 ans, une insulino-résistance et une hypertriglycéridémie très marquée avec des pics allant jusqu'à 22g/L. Aucune autre cause moléculaire d'hypertriglycéridémie n'a été trouvée par séquençage direct des gènes responsables d'hyperchylomicronémies héréditaires (LPL, APOA, APOC2, APOC3, GPIHBP1, LMF1, APOE:E3/E3). Cette patiente présente une obésité androïde (IMC : 30) avec accumulation de graisse au niveau du tronc, de la face et du cou (bosse de bison) et une lipoatrophie des membres inférieurs. Ses parents ne sont pas diabétiques et présentent une hypertriglycéridémie modérée (1,99 g/L pour la mère à 50 ans et 3,56 g/L pour le père à 45 ans). La mère de la patiente n'est pas porteuse de la mutation et le père n'a pas pu être testé car il est décédé. Par ailleurs, cette patiente est fille unique et constitue donc un cas sporadique. Cette mutation du gène *LMNB2* (c.700C > T p.R234W) est rare (fréquence < 0,01% sur ExAc) et prédite pathogène par l'ensemble des logiciels de prédiction de pathogénicité. Les lamines B2 sont des lamines de type B et constituent avec les lamines de type A la lamina nucléaire. Ces protéines sont des filaments intermédiaires de type V situés sur la face interne de la membrane nucléaire interne et jouent un rôle prépondérant dans la maintenance de la structure nucléaire, dans la régulation transcriptionnelle et dans l'organisation de l'hétérochromatine. Deux études ont rapporté des cas de Lipodystrophie Partielle Acquise (LPA) dues à des mutations hétérozygotes du gène *LMNB2* avec un diabète sévère et une anomalie de répartition des graisses différente avec lipoatrophie de la partie supérieure du corps (Syndrome de Barraquer-Simons). Des études fonctionnelles sont actuellement en cours sur les fibroblastes de la patiente afin de rechercher les caractéristiques typiques des laminopathies comme des anomalies des noyaux.

Résumé assises 2018.docx

P565 - DPC : Identification d'un variant pathogène fréquent dans CACNA1C chez les Africains associé avec un risque de mort subite.

Auteurs :

Malorie Blancard (1), Amal Debbiche (1), Koichi Kato (1), Christelle Cardin (2), Sabrina Guichard (3), Estelle Gandjbakhch (4, 1), Michel Haissaguerre (5, 6), Fabrice Extramania (7), Mélèze Hocini (5, 6), Olivier Geoffroy (8), Antoine Leenhardt (7), Pascale Guicheney (9), Jean-Sébastien Rougier (3)

1. INSERM UMRS 1166, Faculté de Médecine Pierre et Marie Curie, PARIS, France
2. Service de Cardiologie, Hôpital Rangeuil, TOULOUSE, France
3. Institut de Biochimie et de Médecine Moléculaire, Université de Berne, BERNE, Suisse
4. Département de Cardiologie, Hôpital Pitié-Salpétrière, PARIS, France
5. L'Institut de Rythmologie et Modélisation Cardiaque (LIRYC), Université de Bordeaux, BORDEAUX, France
6. Inserm U1045 CRCTB, Université de Bordeaux, BORDEAUX, France
7. Centre de Référence des Maladies Cardiaques Héréditaires, Hôpital Bichat, PARIS, France
8. Département de Cardiologie, CHU Sud Réunion, La Réunion, France
9. INSERM UMRS 1166, Hôpital Pitié-Salpétrière, PARIS, France

Mots clefs : Arythmies cardiaques, mort subite, calcium, CACNA1C, patch-clamp

Résumé :

Introduction : Le calcium joue un rôle majeur dans le couplage excitation-contraction des cardiomyocytes. L'un des acteurs de ce couplage est le canal calcique de type lent, $Ca_V1.2$, composé de 3 sous-unités : alpha, beta et delta1. Plusieurs variants faux sens hétérozygotes dans les gènes codant ces sous-unités ont été identifiés dans des arythmies congénitales associées à un risque de mort subite telles que le syndrome de Brugada (BrS), le syndrome de repolarisation précoce (ERS), les syndromes du QT long (LQTS) et du QT court (SQTS) et la fibrillation ventriculaire idiopathique (IVF).
Méthodes : Nous avons séquencé les gènes codant pour les 3 sous-unités du canal calcique cardiaque $Ca_v1.2$: *CACNA1C*, *CACNB2*, *CACNA2D1* chez 65 probands atteints de BrS (25), de SQTS de (7), de ERS (7) ainsi que chez 26 patients atteints de FVI associée à des torsades de pointes à couplage court (TdPcc). La fréquence, la localisation, la conservation et la pathogénicité des variants identifiés ont été évaluées à l'aide de plusieurs logiciels informatiques et de banques de données publiques. Les variants ont été introduits par mutagénèse dirigée dans les plasmides codant pour la sous-unité d'intérêt. Après transfection des 3 sous-unités dans des cellules TsA-201, les courants calciques (I_{Ca}) ont été étudiés par patch-clamp.
Résultats : Nous avons identifié 6 variants dans le gène *CACNA1C* chez des patients atteints de BrS, ERS ou de FVI associée à des TdPcc. Aucun variant n'a été identifié dans *CACNB2* et *CACNA2D1*. L'étude électrophysiologique de ces variants n'a montré aucune altération de la fonction de $Ca_v1.2$ pour 5 des 6 variants. Le sixième variant, p.T1787M, a été identifié chez 2 patients ayant présenté une mort subite cardiaque récupérée. L'un, originaire du Cameroun, était atteint d'un ERS et l'autre, originaire de l'île de la Réunion, présentait une FVI associée à des TdPcc. Comparé au contrôle, l'étude par patch-clamp de ce variant a montré une réduction importante de I_{Ca} sans altération des propriétés biophysiques. De manière inattendue, ce variant, c.5360C > T, rs192749597, présente une fréquence allélique élevée (MAF =1.6% chez les Africains). La thréonine substituée en méthionine présente également une faible conservation parmi les espèces.
Conclusion :
Le génotypage des gènes *CACNA1C*, *CACNB2* et *CACNA2D1* et l'analyse fonctionnelle des variants identifiés a montré :

1) Des variants rares de *CACNA1C* affectant des résidus conservés (p.A1648T, p.A1689T, p.R1973Q, p.C1992F) n'ayant aucun caractère pathogène
2) Une absence de variant pathogène chez les patients atteints de BrS ou de SQTS que nous avons étudiés
3) Un variant pathogène fréquent chez 0.8% de la population africaine p.T1787M de la sous-unité Ca_va1c codé par *CACNA1C* (c.5360C>T, rs192749597). Ce variant, identifié chez 2 sujets d'origine africaine ayant eu un arrêt cardiaque et induisant une perte de courant calcique semble être un variant d'intérêt associé à un risque de mort subite.

P566 : Dystonie myoclonique et la mise en évidence d'une nouvelle mutation du gène SGCE chez une famille marocaine en utilisant le WES.

Auteurs :

FAIZA CHBEL (1), HOUDA BENRAHMA (1), HASNA HAMDAOUI (2), HANANE TERFOUS (2), AZIZA BELKHAYAT (2), HOSSEIN MOSSAFA (2), KARIM OULDIM (3)

1. Faculté de Médecine, LNR, UM6SS, casablanca, Maroc
2. LNR, HCK, casablanca, Maroc
3. LNR, hck, casablanca, Maroc

Mots clefs : dystonie myoclonique, gène SGCE, maroc

Résumé :

La dystonie myoclonique désigne une affection génétique et héréditaire qui se manifeste en général avant l'âge de 20 ans, parfois dès la première année de vie. Elle se caractérise par des contractions musculaires involontaires et des mouvements anormaux. Les contractions sont surtout observées au niveau du cou, de la tête et des bras. Les formes familiales sont liées au gène SGCE codant pour l'epsilon sarcoglycane situé sur le chromosome 7q21.
Dans ce travail, nous rapportons la première observation d'une forme familiale d'une dystonie myoclonique le cas d'une fille de 17 ans marocaine souffrant d'une dystonie myoclonique et dont les premiers symptômes ont commencé depuis son enfance : myoclonies essentielles de repos et d'actions accentuées par le stress et l'émotion avec un léger retard psychomoteur. La patiente a été opérée à l'âge de 2 ans pour communication interventriculaire avec bonne évolution. La maladie ségrége chez cette famille marocaine sous forme autosomique dominante du côté paternel (6 cas) et sur trois générations, avec pénétrance incomplète. L'examen cytogénétique a montré un caryotype normal.
Grâce à l'utilisation d'une nouvelle stratégie de diagnostic le Whole Exome Sequencing (CentoXome Gold®), nous avons mis en évidence une nouvelle mutation du gène SGCE c.662G>T à l'état hétérozygote chez le cas index. Le père porte aussi le même variant, donc la transmission est soumise à empreinte parentale.
Il s'agit de la première observation marocaine d'une dystonie myoclonique familiale, qui montre l'intérêt des explorations moléculaires en neurogénétique au profit du patient et sa famille pour une meilleure prise en charge médicale, une adaptation socio-professionnelle et un conseil génétique adéquat.

P567 - DPC : Stratégie d'identification de nouveaux gènes causaux dans l'hypobêtalipoprotéinémie familiale : étude HYPOCHOL

Auteurs :

Matthieu Pichelin (1, 2), Mathilde Di-Fillipo (3, 4), Marie Marrec (2), Elias Barrak (2), Gilles Degraef (5), Charlotte Autier (6), Didier Goxe (7), Richard Redon (1), Jean-Jacques Schott (1), Philippe Moulin (3, 8), Jocelyne Magre (1), Bertrand Cariou (1, 2)

1. INSERM UMR 1087, CNRS UMR 6291, l'institut du thorax, Nantes, France
2. CIC Endocrinologie-Nutrtition, Clinique d'Endocrinologie, Maladies Métaboliques et Nutrition, CHU de Nantes, l'institut du thorax, Nantes, France
3. UF Dyslipidémies, Service de Biochimie et Biologie Moléculaire Grand Est, GHE, LBMMS, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
4. INSERM U1060, INSA de Lyon, INRA U1235, Univ Lyon-1, Université de Lyon, Villeubanne, France
5. Laboratoire Bioliance, Bioliance, Nantes, France
6. Centre d'examens de santé de la Caisse Primaire d'Assurance Maladie de Loire-Atlantique, Caisse Primaire d'Assurance Maladie, Saint Nazaire, France
7. Centre d'examens de santé de la Caisse Primaire d'Assurance Maladie de Vendée, Caisse Primaire d'Assurance Maladie, La Roche sur Yon, France
8. INSERM U1060, INSA de Lyon, INRA U1235, Univ Lyon-1, Université de Lyon, Villerbannes, France

Mots clefs : Hypobêtalipoprotéinémie, NGS, APOB, PCSK9

Résumé :

Contexte
L'hypobêtalipoprotéinémie familiale (FHBL) est une maladie autosomique dominante caractérisée par de faibles taux de LDL cholestérol (LDL-c ≤ 5ème percentile pour l'âge et le sexe) qui peut être associée à une protection cardiovasculaire et à un syndrome de longévité. Les sujets atteints de FHBL sont porteurs de mutations hétérozygotes dans le gène de l'apolipoprotéine B (APOB), de la Proprotéine Convertase Subtilisine/Kexine de type 9 (*PCSK9*) et de l'Angiopoïetine like 3 (*ANGPTL3)*. Cependant dans la moitié des cas, les causes génétiques de l'HBLF demeurent inconnues.
Objectifs-Méthodes
Afin d'identifier de nouveaux gènes impliqués dans la FHBL, nous menons depuis 2015 une étude prospective (HYPOCHOL) destinée à constituer une cohorte de patients FHBL phénotypés en vue de mener un dépistage familial et pour les familles informatives sans mutation identifiée sur les trois gènes connus, l'exploration de nouveaux gènes candidats par séquençage du génome entier. Afin de parvenir à la constitution d'une cohorte de 200 probands, les patients seront recrutés par les deux centres experts français de Lyon et de Nantes. Au niveau Nantais, une stratégie de maillage territorial a été mise en place grâce aux laboratoires d'analyses médicales du groupe Bioliance et aux centres de Santé de la Sécurité Sociale de Loire-Atlantique et de Vendée. Le diagnostic génétique est réalisé soit sur la puce Haloplex (Rimbert et al. 2016) soit sur puce NimbleGen (Roche sur Nextseq500, Illumina) par la plateforme de Lyon contenant un panel de 380 gènes impliqués dans le métabolisme des lipoprotéines ou associés à la variabilité de la cholestérolémie et de la triglycéridémie en population générale, Les analyses bioinformatiques sont réalisées avec le pipeline HCL PapilLyon sur les gènes du panel 1 (*APOB*, *PCSK9*, *ANGPTL3*).
Résultats
Dans HYPOCHOL, 41 sujets présentant une hypobêtalipoprotéinéimie avec des taux de LDL-c ≤ 0.5g/L ont été inclus dans HYPOCHOL. Six sujets ont été secondairement exclus en raison d'une remontée des taux de LDL-c. Nous retrouvons, sur les 24 patients ayant bénéficié du rendu du diagnostic génétique une mutation dans 58% des cas : 11 mutations du gène *APOB* dont trois nouvelles mutations non-sens dans le gène publiées en 2016 (Rimbert *et al.* 2016), 2 mutations du gène *PCSK9* et une possible mutation du gène *ANGPTL3*. Dix propositus n'ont pas de mutation connue et les analyses familiales sont en cours d'extension. Un séquençage d'exome est en cours dans une large famille informative.
Conclusion
Ces données préliminaires de notre cohorte démontrent que les causes génétiques de FHBL restent méconnues pour une forte proportion de patients. Des stratégies génétiques familiales ou sur des cohortes de formes isolées doivent être menées pour identifier de nouveaux gènes impliqués dans le métabolisme du LDL-c afin de comprendre les mécanismes physiopathologiques et à terme développer de nouvelles cibles thérapeutiques.

Abstract_HYPOCHOL_Assises_genetiques_VF.pdf

P568 : Variants TTN et panels de séquençage haut débit en myopathies : caractéristiques et domaines protéiques impliquées

Auteurs :

Corinne METAY (1), Tanya STOJKOVIC (2), Alix De BECDELIEVRE (3), Valérie JOBIC (4), Karen GAUDON (4), Anthony BEHIN (2), Arnaud ISAPOF (5), Susana QUIJANO-ROY (6), Pascal CINTAS (7), Marie-Christine MINOT-MYHIE (8), Céline TARD (9), Pascal LAFORET (10), Alexandra NADAJ PAKLEZA (11), Ana FERREIRO (12), Bruno EYMARD (2), Pascale RICHARD (4)

1. Centre de Génétique Moléculaire et Chromosomique, Service de Biochimie Métabolique, U.F de Cardiogénétique et Myogénétique Moléculaire et Cellulaire, Groupe Hospitalier La Pitié-Salpêtrière, Paris, France
2. Centre de Référence Maladies Neuromusculaires Paris-Est, APHP, Groupe Hospitalier La Pitié-Salpêtrière, Paris, France
3. Département de Génétique, Hôpital Henri Mondor, Créteil, France
4. Centre de Génétique Moléculaire et Chromosomique, Service de Biochimie Métabolique, U.F de Cardiogénétique et Myogénétique Moléculaire et Cellulaire, APHP, Groupe Hospitalier La Pitié-Salpêtrière, Paris, France
5. Service de Neuropédiatrie, APHP, Hôpital Armand Trousseau, Paris, France
6. Centre de Référence des Maladies Neuromusculaires, Service de Pédiatrie, APHP, Groupe Hospitalier Raymond Poincaré, Garches, France
7. Service de Neurologie, Centre de Référence des Maladies Neuromusculaires adultes, CHU de Toulouse, Toulouse, France
8. Service de Neurologie, CHU de Rennes, Rennes, France
9. Service de Neurologie, CHRU de Lille, Lille, France
10. Centre de Référence des Maladies Neuromusculaires, Consultations Adultes, APHP, Groupe Hospitalier Raymond Poincaré, Garches, France
11. Service de Neurologie, Centre de Référence des Maladies Neuromusculaires adultes, CHU d'Angers, Angers, France
12. Centre de Référence des Maladies Neuromusculaires, Service de Pédiatrie, APHP, Groupe Hospitalier La Pitié-Salpêtrière, Garches, France

Mots clefs : TTN, panels de séquençage haut débit, myogénétique

Résumé :

Grâce à la mise en place du séquençage haut débit, notre laboratoire a pu étendre son domaine diagnostic à l'analyse de 53 gènes impliqués dans des myopathies selon 3 panels : (1) rétractiles, (2) myofibrillaires et à inclusions et (3) distales et scapulopéronières. Jusqu'à présent, 370 patients ont pu bénéficier de cette approche génétique. Parmi ces gènes, *TTN* est caractérisé par sa taille particulièrement importante (363 exons, NM_001267550.1) et inaccessible jusqu'à présent par séquençage Sanger dans le domaine du diagnostic. Ce gène code une protéine géante qui joue un rôle critique au niveau structural, développemental, mécanique ainsi qu'une fonction de régulation au niveau du muscle squelettique et cardiaque. Nous présentons ici un bilan des variants observés pour ce gène, via ces panels, pour 12 patients atteints de myopathies rétractiles, 4 patients atteints de myopathies myofibrillaires, un patient atteint de myopathie à inclusions et un autre présentant une myopathie distale. Le grand nombre de variants observés par séquençage haut débit, la multiplicité des isoformes et séquences de référence *TTN*, et l'existence de variants tronquants dans la population saine (Roberts AM *et al*_Sci Transl Med 2015, Golbus JR *et al*_Circ Cardiovasc Genet 2012) rendent leur classification délicate. Dans un premier temps, nous avons adopté une approche pragmatique en omettant les faux-sens isolés et en ne ciblant que les variants non sens (STOP, décalage du cadre de lecture) et ceux d'épissage, puis en leur associant ou non un variant faux-sens. Puis nous les avons interprétés grâce aux données de fréquence allélique issues de gnomAD, à la base de données HGMD Pro, Pubmed et aux résultats issus des outils de prédiction bioinformatique. Enfin, des discussions clinico-biologiques avec les prescripteurs ont permis d'orienter leur caractère causal. Dans la mesure du possible, la ségrégation familiale du variant a été effectuée. Nous discuterons des différents types de variants interprétés comme corrélés au phénotype, leurs localisations au sein des domaines protéiques de la Titin et l'impact sur l'interaction avec d'autres protéines du muscle. L'association ou non à des atteintes cardiaques sera abordée également.

P569 : Le Syndrome de Bruck : entité clinique hétérogène associée à différents défauts de la voie de signalisation du Collagène 1

Auteurs :

Genevieve Baujat (1), Sophie Monnot (2), Zagorska Pejin (3), Sophie Rondeau (4), Coralie Haudry (4), Jean-Paul Bonnefont (5), Graziella Pinto (6), Robert Rubinsztajn (7), Michel Zerah (7), Arnold Munnich (5), Muriel de la Dure Molla (8), Caroline Michot (1), Valérie Cormier-Daire (1)

1. Département de Génétique Médicale, Centre de Référence Maladies Osseuses Constitutionnelles, Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, Institut Imagine, Hopital Necker-Enfants malades, Paris, France
2. Département de Génétique, Centre de Référence de Maladies Osseuses Constitutionnelles, Hôpital Necker-Enfants malades (AP-HP), Paris, France
3. Département d'Orthopédie Pédiatrique, Hôpital Universitaire Necker-Enfants malades, Paris, France
4. Département de Génétique,, Hôpital Universitaire Necker-Enfants malades, Paris, France
5. Département de Génétique, Université Paris Descartes-Sorbonne Paris Cité, Institut Imagine,, Hôpital Universitaire Necker-Enfants malades, Paris, France
6. Département d'Endocrinologie Pédiatrique, , Hôpital Universitaire Necker-Enfants malades, Paris, France
7. Département de Neurochirurgie Pédiatrique, , Hôpital Universitaire Necker-Enfants malades, Paris, France
8. Département de Génétique, Centre de Référence de Maladies Osseuses Constitutionnelles, Hôpital Universitaire Necker-Enfants malades, Paris, France

Mots clefs : ostéogenèse imparfaite, arthrogrypose, pterygium, FKBP10, PLOD2, COL1

Résumé :

Les Ostéogenèses Imparfaites (OI) constituent un groupe hétérogène de pathologies avec fragilité osseuse constitutionnelle, liées à une altération de la synthèse et/ ou des modifications post translationnelle du collagène de type I. La majorité des OI sont autosomiques dominantes, liées à des mutations de *COL1A1* ou *COL1A2,* codant le pro-collagène de type 1(proa1 and proa2). Ces dernières années ont vu la mise de évidence d'un nombre croissant de gènes impliqués dans des formes d'OI récessives / liées à l'X.

Le syndrome de Bruck (BS) est une forme ultra-rare d'OI caractérisée par l'association d'une fragilité osseuse à des contractures congénitales. La sévérité du BS est variable et différents signes peuvent être présents : déficit statural, déformations, arthrogrypose et pterygia.

Le BS de type 1 est associé à des mutations bi-alléliques de *FKBP10* (17q21), codant une protéine chaperonne du collagène 1, impliquée en particulier dans la conformation de cette protéine. Le BS de type 2 est associé à des mutations bi-alléliques de *PLOD2* (3q24), codant une lysyl hydroxylase 2 (LH), enzyme clé responsable de l'hydroxylation des résidus lysine situés sur la face externe de la triple hélice du collagène 1, permettant les interactions entre ce collagène 1 mature et le cartilage.

Nous présentons ici une série de 11 patients (provenant de 9 familles) ayant un BS. Sur le plan clinique, ces patients ont entre 4 et 23 ans. Ils ont tous l'association variable de pouces adductus et de limitations articulaires congénitales. Parmi eux, 7 ont une forme déformante progressive. Le phénotype clinique (en particulier neurologique respiratoire et dentaire) et radiologique est détaillé.
Sur le plan moléculaire, 3 familles sont associées à une altération de *FKBP10* et 1 famille est associée à *PLOD2*. Dans 3 familles a été démontrée l'implication d'un autre gène de la voie de signalisation du COL1, déjà connu pour son implication dans d'autres formes d'OI. Aucun variant n'a pu être mis en évidence dans 1 famille malgré l'étude extensive par le panel de séquençage nouvelle génération dédié aux fragilités osseuses. Enfin, la dernière famille est encore en cours d'étude via ce panel.

Nous analysons les possibles corrélations phénotypes - génotypes de cette série. Le traitement par bisphosphonates apparaît peu efficace chez les sujets porteurs d'une forme liée à *FKBP10* mais apporte une amélioration significative chez les autres patients.

P570 : Exploration moléculaire des gènes CYP24A1, SLC34A1 et SLC34A3 dans une cohorte de patients avec hypersensibilité à la vitamine D

Auteurs :

Arnaud Molin (1, 2), Céline Ballandonne (2), Nadia Coudray (1), Loic De Parscau (3), Xavier Parent (4), Diana Bolca (5), Nicolas Richard (1), Hervé Mittre (1), Marie-Laure Kottler (1, 2)

1. Génétique, CHU de Caen, Caen, France
2. EA7450 BioTARGen, Université Caen Normandie UFR Santé, Caen, France
3. Pédiatrie, CHU de Brest, Brest, France
4. Laboratoire de Biologie médicale, CH de Colmar, Colmar, France
5. Génétique, Hopital Universitaire de Cluj, Cluj, Pologne

Mots clefs : hypersensibilité à la vitamine D, lithiase rénale, néphrocalcinose, hypercalcémie, hypercalciurie

Résumé :

Introduction : L'hypersensibilité à la vitamine D correspond sur le plan biologique à l'association d'une hypercalcémie transitoire avec PTH basse (adaptée), d'une hypercalciurie et d'une 1,25-$(OH)_2$D (calcitriol) augmentée (inappropriée).
En dehors des formes néonatales transitoires, des formes génétiques récessives autosomiques (MIM143880, 616963) ont été décrites, associées à des mutation perte de fonction de *CYP24A1* (20q13.2, MIM126065), le gène codant l'enzyme vitamine D 24-hydroxylase responsable du catabolisme de la vitamine D. Le déficit enzymatique est responsable d'une accumulation de vitamine D active, d'où une dérégulation de l'absorption intestinale de calcium avec tendance à l'hypercalcémie/hypercalciurie chronique. En cas de prise de vitamine D ou d'exposition solaire (favorisant la synthèse cutanée de vitamine D), une décompensation est possible sous la forme de complications aigües de l'hypercalcémie (désydratation, difficultés alimentaires, troubles du rythme et de la conduction) ou chroniques de l'hypercalciurie (lithiase rénale, néphrocalcinose, insuffisance rénale chronique).
Plus récemment, un autre mécanisme physiopathologique a été identifié chez des patients présentant un phénotype similaire associé à des anomalies du phosphate (hypophosphatémie et hyperphosphaturie modérées transitoires). Il s'agit de mutations perte de fonction dans les gènes *SLC34A1* (5q35.3, MIM182309) et *SLC34A3* (9q34.3, MIM609826) codant les co-transporteurs sodium-phosphate NPT2a/NaPiIIa et NPT2c/NaPiIIc. Ces mutations ont précédemment été associées au rachitisme hypophosphatémique avec hypercalciurie (MIM612286, 241530).
Elles sont responsables d'une fuite urinaire de phosphate, d'où une diminution de la sécrétion de FGF23, hormone hyperphosphaturiante inhibant la synthèse de calcitriol, et une dérégulation de la production de calcitriol.
Matériel et méthode : Nous rapportons l'étude des régions codantes et des jonctions introns-exons par séquençage haut-débit (Ion Personal Genome Machine, Thermofisher Scientific, Waltham, Massachusetts, États-Unis) des gènes *CYP24A1*, *SLC34A1* et *SLC34A3* dans une cohorte de 90 patients porteurs d'un phénotype d'hypersensibilité à la vitamine D.
Résultats : Nous identifions 22 (24.4%) patients avec mutation biallélique de *CYP24A1*, 2 (2.2%) patients avec mutation biallélique de *SLC34A1* et 3 (3.3%) patients avec mutation biallélique de *SLC34A3*. Le phénotype biologique est identique à l'exception de phosphatémies fréquemment rapportées à la limite inférieure de la normale.
Conclusion : Nous confirmons l'implication des gènes codant les transporteurs de phosphates NPT2a/NaPiIIa et NPT2c/NaPiIIc dans le phénotype d'hypersensibilité à la vitamine D, en moidre proportion que les mutation de *CYP24A1*. S'agissant essentiellement de mutations faux-sens, une étude attentive du phénotype, et en particulier du bilan phosphocalcique sanguin et urinaire, est nécessaire pour l'interprétation des variants.

P571 : Apport du Séquençage Nouvelle Génération pour la détection des mutations d'épissage dans le gène RYR1

Auteurs :

John RENDU (1), Caroline Bosson (1), Nathalie Roux-Buisson (1), Amandine Chatagnon (1), Babatounde Bankole (1), Isabelle Marty (2), Julien Fauré (1)

1. Laboratoire de Biochimie Génétique et Moléculaire, CHU de Grenoble, Grenoble, France
2. Grenoble Institut des Neurosciences, Grenoble Institut des Neurosciences, Grenoble, France

Mots clefs : Next generation sequencing, RYR1, mRNA, splicing mutation

Résumé :

In skeletal muscle, the ryanodine receptor type 1 (RyR1) is an intracellular calcium channel located in the membrane of the sarcoplasmic reticulum responsible for calcium release during skeletal muscle excitation – contraction coupling.
More than 500 mutations are described in RYR1 gene that are responsible for autosomal dominant or recessive structural congenital myopathies with cores (MIM: 117000 and 255320). When one mutation is identified, it is not always easy to determine whether the mutation is dominant or recessive associated with an undetected second mutation, as splicing mutation.
Indeed, in the course of molecular diagnosis, splicing mutations identification is quite delicate. One method to identify splicing abnormalities is direct RNA analysis by RT-PCR Sanger sequencing. However, many splicing alterations could not be detected by this approach as mRNA is frequently degraded by nonsense-mediated mRNA decay system (NMD) and Sanger is not very sensitive. More sensitive techniques are thus needed to detect degraded mRNA.
The next generation sequencing approach allows now a better molecular diagnosis. We report here a next generation RYR1 targeted cDNA sequencing approach with a homemade automated pipeline for splicing abnormalities detection.
Using this technique, we highlighted nine novel splicing mutations in the *RYR1* gene while less than 40 were reported up to now in Human Genomic Mutation Database. These mutations were found in patients with recessive congenital myopathies and were associated with missense mutations. All but one altered the physiological splice site: three altered the consensus donor and acceptor splice sites while five were located nearby consensus splice sites. One mutation was a deep intronic variation that activated a cryptic splice site. The splicing alteration was detected thanks to cDNA next generation sequencing and genomic variation was identified by Sanger sequencing on genomic DNA around the splicing abnormalities.
Our data indicate that specific mutations which can escape DNA detection are not so rare (about 8% of RYR1 mutations) and that extensive analysis has to been performed whenever possible, especially when only one variant has been identified. This will likely help to clarify the nature of the recessive or dominant trait of RYR1 mutations and the question of the variable penetrance of mutations.

Abstract génétique RYR1 épissage.docx

P572 : Diagnostic moléculaire des neuropathies périphériques sensitives et/ou douloureuses par un panel NGS dédié

Auteurs :

Alix de Becdelièvre (1, 2), Abdel Aissat (3, 1), Emmanuelle Faubert (1), Christian Vasseur (1), Guillaume Gricourt (1), Valérie Raclin (4), Benoit Funalot (4, 5), Pascale Fanen (6, 7)

1. Département de génétique, AP-HP GH Henri Mondor Chenevier, Creteil, France
2. INSERM U955 Equipe 5, IMRB, Creteil, France
3. INSERM U955, équipe 5, Génétique, Creteil, France
4. Département de Génétique, AP-HP GH Henri Mondor Chenevier, Créteil, France
5. INSERM U955, IMRB, Créteil, France
6. Département de Génétique, GH Henri Mondor, Créteil, France
7. INSERM U955, équipe 5, IMRB, Créteil, France

Mots clefs : érythermalgie, neuropathies périphériques sensitives, canalopathies, neuropathies des petites fibres

Résumé :

Les neuropathies périphériques sensitives d'origine génétique forment un groupe de pathologies de spectre clinique très large, affectant soit les petites et grosses fibres, soit seulement les petites fibres nerveuses. Elles sont classées en neuropathies sensitives et dysautonomiques (HSAN), neuropathies des petites fibres (NPF), érythermalgie (EM) et syndrome de douleurs paroxystiques extrêmes (PEPD). A ce jour, les causes génétiques sont encore mal connues, et peu de patients sont diagnostiqués sur le plan moléculaire.
Nous avons étudié un total de 70 patients : 4 HSAN, 38 NPF, 21 EM et 7 PEPD grâce à un panel à façon de 27 gènes incluant tous ceux connus pour leur implication dans les neuropathies périphériques sensitives. Les 630 cibles (exons codants et régions introniques flanquantes, environ 150kb) ont été capturées et séquencées sur un séquenceur Miseq (Illumina).
L'analyse bioinformatique a été réalisée à l'aide de deux algorithmes indépendants, dont une suite bioinformatique « maison » (SMAUG). Les mutations ou variants de signification inconnue (VUS) possiblement impliqués dans la pathologie ont été confirmés par séquençage Sanger, et les études de ségrégation familiale ont été réalisées quand cela était possible.
Nous avons identifié plusieurs mutations avérées et de nombreux VUS, dont certains probablement pathogènes. Nos résultats mettent en exergue la nécessité d'interactions clinico-biologiques multiples, qui seules permettent de conclure dans bon nombre de cas. Notre étude montre l'intérêt d'un bon phénotypage clinique et électrophysiologique, ainsi que des études de ségrégation familiale.

P573 - DPC : Cardiopathie rythmique par mutation de SCN5A R222Q chez une marathonienne traitée par médecine de précision

Auteurs :

Simon Rey (1), Anna Serova-Erard (2, 3), François Cornélis (2, 3)

1. Génétique Médicale, CHU de Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, France
2. Génétique médicale, CHU de Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, France
3. GenHotel-Auvergne, Faculté de Médecine, Université Clermont-Auvergne, Clermont-Ferrand, France

Mots clefs : cardiomyopathie dilatée, SCN5A, médecine de précision

Résumé :

Introduction
Les mutation du gène *SCN5A*, codant pour la sous-unité 5 alpha du principal canal sodique cardiaque, sont impliquées dans le syndrome du QT Long type 3, le syndrome de Brugada, l'arythmie complète par fibrillation auriculaire familiale, la cardiomyopathie dilatée (CMD), la fibrillation ventriculaire familiale, la maladie du sinus syncopal et la mort subite du nouveau-né. Ces divers phénotypes sont expliqués par la variété des mutations. Nous rapportons un nouveau cas de CMD type 1E par mutation R222Q chez une marathonienne caucasienne.
Description du cas
A l'occasion d'une anesthésie pour appendicite à 24 ans, sont notés des extrasystoles ventriculaires (ESV) en salve, certaines bigéminées. La patiente pratique le tennis en compétition depuis 4 ans. Elle poursuit, sans traitement, son activité sportive. A 43 ans, un électrocardiogramme (ECG) d'effort, réalisé en prévision d'un marathon, retrouve un tracé inchangé au repos, se normalisant à l'effort. L'échographie cardiaque ne montre aucune dilatation. Le marathon est parcouru en 3h30. A 53 ans, survient un épisode d'arythmie complète par fibrillation auriculaire (AC/FA), traité avec succès par radiofréquence.
A 57 ans, l'ECG reste inchangé au repos, mais l'échographie cardiaque au repos montre une CMD (dilatation ventriculaire gauche (LVDD) à 60mm avec fraction d'éjection ventriculaire gauche (FEVG) à 35%). Une échocardiographie d'effort montre une disparition des troubles rythmiques et une normalisation de la FEVG. Un nouveau traitement par radiofréquence n'est efficace que transitoirement. Un traitement par flécaïne dévoile une dysfonction sinusale associée, traitée par implantation d'un pacemaker. La patiente arrête la pratique de la course à pied pour la marche nordique (7h30 par semaine en 5 séances). L'IRM cardiaque ne montre aucun argument pour une dysplasie arythmogène ventriculaire droite. Le traitement par flécaïne est repris, entrainant la disparition des ESV et de la dilatation cardiaque. Une AC/FA survient, traitée efficacement par adjonction de nebivolol. La patiente est, sous ce traitement, asymptomatique depuis 1 ans quand elle est adressée pour test génétique révélant la mutation R222Q de *SCN5A*.
Discussion - Conclusion
Dans la littérature, cette mutation a été rapportée pour 40 individus de 7 familles. Elle est quasi-constamment associée à des ESV ou une tachycardie supra-ventriculaire (37/40). Un pacemaker a été mis en place dans 4 cas sur 40, un défibrillateur implantable dans 8 cas sur 40 et 6 morts subites sont survenues entre 4 mois et 71 ans. Le mécanisme serait dû à des contractions prématurées multifocales ectopiques des cellules du faisceau de Purkinje. La dilatation cardiaque est secondaire à l'arythmie, comme le montre sa correction par le traitement anti-arythmique. L'identification de la mutation a permis de conforter l'attitude thérapeutique, inhabituelle dans les CMD, visant l'arythmie et non la dilatation cardiaque, un exemple de la médecine de précision.

P574 : Conséquences phénotypiques et fonctionnelles du variant c.1322C>T p.(Ala441Val) de NLRP3 dans les maladies auto-inflammatoires associées à des mutations de la cryopyrine (syndrome CAPS)

Auteurs :

Fawaz Awad (1), Eman Assrawi (1), Camille Louvrier (1, 2), Claire Jumeau (1), Sylvie Odent (3), Sophie Georgin-Lavialle (1, 4), Véronique Despert (5), Philippe Duquesnoy (1), Laetitia Cobret (1), William Piterboth (2), Bruno Copin (2), Florence Dastot-Le Moal (2), Valérie Nau (2), Gilles Grateau (1, 4), Irina Giurgea (1, 2), Serge Amselem (1, 2), Sonia-Athina Karabina (1)

1. Sorbonne Universités, UMRS_933 Inserm/UPMC Univ Paris 06, DHU I2B, Hôpital Trousseau, Paris, France
2. Département de génétique (Assistance Publique -Hôpitaux de Paris), DHU I2B, Hôpital Trousseau, Paris, France
3. Service de génétique clinique, CH Rennes - Hôpital Sud, Rennes, France
4. Centre de référence de la fièvre méditerranéenne familiale, DHU I2B, Service de médecine interne (Assistance Publique - Hôpitaux de Paris), Hôpital Tenon, Paris, France
5. Service de médecine de l'enfant et de l'adolescent, CH Rennes - Hôpital Sud, Rennes, France

Mots clefs : etudes fonctionnelles, maladies autoinflammatoires, NLRP3

Résumé :

Contexte : Les cryopyrinopathies (*cryopyrin-associated periodic syndrome* ou CAPS) sont un groupe de maladies auto-inflammatoires rares dues à des mutations faux-sens du gène *NLRP3* codant pour la cryopyrine. Ces maladies s'expriment selon un mode autosomique dominant et comprennent 3 entités cliniques : i) l'urticaire familial au froid, ii) le syndrome de Muckle Wells (MWS) associant une urticaire et une surdité neurosensorielle, et iii) le syndrome CINCA à début néonatal, qui associe des signes cutanés, articulaires et neurologiques. La cryopyrine, principalement exprimée dans les cellules myéloïdes, participe à la formation d'un complexe multi-protéique appelé inflammasome comprenant la protéine ASC et la pro-caspase 1. L'activation de l'inflammasome conduit à la production des cytokines pro-inflammatoires IL1B et IL18.
Objectifs : Déterminer les bases moléculaires et cellulaires des syndromes auto-inflammatoires identifiés dans deux familles : l'une multiplexe dans laquelle des syndromes MWS et CINCA ont été identifiés chez 12 patients (sur 4 générations), et l'autre dans laquelle un patient avec MWS était identifié.
Patients et méthodes : La totalité des exons codants et des bornes introniques de *NLRP3* a été séquencée chez tous les membres accessibles des 2 familles. Les études fonctionnelles comportent (i) la quantification de IL1B et IL18 (ARNm et protéine) produits par les monocytes circulants ; (ii) la quantification des specks (témoins de l'activation de l'inflammasome) dans les cellules HEK293T (exprimant la pro-caspase 1 et ASC couplée à la GFP) tranfectées par le plasmide codant pour la cryopyrine normale ou mutée ; et (iii) la quantification de l'expression ARNm et protéique des cytokines IL1B et IL18 par la lignée THP1 transfectée par ces mêmes plasmides.
Résultats et Conclusion : La même variation c.1322C > T, qui touche un dimère CpG et conduit à la substitution p.(Ala441Val), a été identifiée chez les patients des deux familles. Cette variation faux-sens, qui touche un résidu très conservé au cours de l'évolution, ségrège parfaitement avec le phénotype pathologique au sein de la grande famille multiplexe. Cette mutation a déjà été rapportée chez d'autres patients, mais à ce jour aucune étude fonctionnelle n'a été réalisée. Les études *ex vivo* réalisées sur les monocytes isolés d'un de nos patients porteur de la mutation p.(Ala441Val) montrent que les monocytes produisent plus de cytokines IL1B et IL18 que des monocytes de donneurs sains (n=4). Les études fonctionnelles réalisées après surexpression de la cryopyrine portant la mutation p.(Ala441Val) révèlent que cette mutation induit un nombre de specks plus élevé (comparé à la cryopyrine normale). Par ailleurs, les cellules THP1 exprimant la cryopyrine mutée sécrètent significativement plus d'IL1B que les cellules exprimant la cryopyrine normale. L'ensemble de ces données attestent du caractère pathogène de la mutation p.(Ala441Val) de NLRP3 dans les cryopyrinopathies

Awad assises 2017.pdf

P575 : La pycnodysostose : à propos de 3 observations

Auteurs :

namouchi manel (1), madiha trabelssi madiha (1), ines chelly (2), maazoul fawzi (1), ouerteni ines (1)

1. SESRVICE DES MALADIES CONGÉNITALES ET HEREDITAIRES, HOPITAL CHARLE NICOLE TUNIS, TUNIS, Tunisie
2. SESRVICE De pediatrie , bizerte, TUNIS, Tunisie

Mots clefs : pycnodysostose, déformations osseuses, chatapsine

Résumé :

Introduction : La pycnodysostose est une maladie génétique lysosomale rare avec une prévalence inférieure à 1/100000. Elle est caractérisée par une ostéosclérose du squelette dûe à des mutations du gène de la cathepsine (1q21) qui se transmettent selon le mode autosomique récessif. Cette enzyme est secrétée par les ostéoclastes et permet le clivage des protéines de la matrice osseuse.
Le but de notre travail est de présenter les particularités cliniques et radiologiques de la pycnodysostose chez trois patients tunisiens.
Patients et méthodes : Etude clinique de 3 patients suivis au Service des Maladies Congénitales et Héréditaires à l'Hôpital Charles Nicolle de Tunis pour pycnodysostose.
Résultats : Il s'agit d'un cas sporadique de sexe masculin et âgé de 40 ans et d'un cas familial (2 sœurs âgées respectivement de 11 et 12 ans). L'enquête génétique a révélé un cas similaire dans la fratrie de monsieur, décédé en bas âge. Nos trois malades étaient issus d'un mariage consanguin. Le développement psychomoteur et le quotient intellectuel étaient normaux chez les 3 patients. L'examen clinique a noté un retard statural, une dysmorphie crânio-faciale associant une exophtalmie, une fontanelle antérieure ouverte avec disjonction des sutures et une hypoplasie mandibulaire et des anomalies des extrémités avec un aspect trapu des doigts et des ongles dystrophiques chez tous les patients. Les anomalies dentaires à type de mauvaise implantation ont été notées chez deux patients dont l'un avait, en plus, une splénomégalie, un thorax en entonnoir et un mandibule luxable. Les radiographies du squelette ont montré une ostéo-condensation diffuse (3/3), un crane élargi (3/3), des sutures larges (3/3), un petit massif facial avec ouverture de l'ongle mandibulaire (2/3), une hypoplasie des phalanges des doigts et des orteils (3/3), une aplasie des 3éme phalanges des deux index (2/3) ainsi qu'une absence ou fragmentation des houppes des doigts (1/3). Des fractures osseuses (jambes et mandibule) ont compliqué l'évolution chez deux malades.
Conclusion : Nos 3 patients avaient un tableau clinique typique de pycnodysostose associant une dysplasie craniofaciale, des déformations rachidiennes et des anomalies dentaires caractéristiques. Cette atteinte osseuse met en jeu essentiellement les pronostics fonctionnel et esthétique soulevant ainsi le problème du diagnostic prénatal.

P576 : Nouvelle mutation du gène POPDC1 (BVES) associée à des blocs de conduction cardiaque du 1er degré et une dystrophie musculaire

Auteurs :

Isabelle Nelson (1), Maud Beuvin (1), Rabah Ben Yaou (1), Cécile Masson (2), Anne Boland (3), Roland Schindler (4), Thomas Brand (4), Bruno Eymard (5), Gisèle Bonne (1)

1. Centre de Recherche en Myologie, UMRS974 UPMC Inserm, Institut de Myologie, Paris, France
2. Unité de BioInformatique, Hopital Necker Enfant Malades, Université Paris Descartes, Paris, France
3. Centre National de Genotypage, , Institut de Génomique, Evry, France
4. Imperial Centre of Translational and Experimental Medicine , Hammersmith Campus, Du Cane Road, London, Royaume Uni
5. AP-HP, Centre de Référence de Pathologie Neuromusculaire, , Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière Paris-Est, Paris, France

Mots clefs : Dystrophie musculaire, BAV

Résumé :

Myocaptur, projet de séquençage d'exomes a été mis en place au niveau national afin d'identifier de nouveaux gènes dans les maladies neuromusculaires. En tant que partenaire de ce consortium, l'Institut de Myologie a sélectionné une cohorte de 98 patients après une caractérisation extensive des donnees cliniques, de l'imagerie et de l'histopathologie musculaire des patients.
Dans cette cohorte, une famille consanguine présentait deux enfants atteints. Le cas index avait été évalué une première fois à l'âge de 19 ans. Il présentait un bloc auriculo ventriculaire de 1er degré (BAV-I) avec un taux de CPK supérieur à 4400 IU/L. Malgré un EMG myopathique et une biopsie musculaire dystrophique, il ne présentait pas de faiblesse musculaire. Sa sœur ainée présentait aussi des CPK supérieures à 1500 IU/L associées à un BAV-I et des myalgies dés l'âge de 30 ans. Trois autres membres de la fratrie étaient asymptomatiques.
Le séquençage des exomes de la maman et des 2 enfants atteints a identifié des variants dans 8 gènes candidats, dont un variant homozygote dans le gène POPDC1 (BVES) après application des filtres (fréquence des variant < 1% et transmission récessive).
POPDC1 (BVES) fait partie de la famille des gènes PODC pour 'Popeye-domain-containing protein', codant des protéines membranaires liant l'AMPc. présentes dans les muscles striés squelettiques et cardiaque. Les modèles animaux porteurs de mutations nulles de ce gène présentent des arythmies sévères et une dystrophie musculaire. A ce jour, une seule famille présentant une dystrophie musculaire des ceintures et des BAVs a été rapportée et est porteuse d'une mutation faux-sens homozygote dans POPDC1 (BVES) (Schindler et al. JCI, 2016).
Nous rapportons ici, un nouveau variant homozygote en position +2 de l'intron 8 (c.816+2T > C). Les analyses des biopsies musculaires des patients montrent par RT-PCR la délétion d'exon 8, le Western-blot révèle une diminution de l'expression protéique de PODC1 (BVES) et l'analyse par l'immunofluorescence révèle une localisation membranaire altérée de POPDC1 et de PODC2.
L'ensemble de ses résultats suggèrent fortement un effet pathogène du variant POPDC1 (BVES) identifié dans cette famille.

P577 : Ostéoporose liée à l'X par mutation de PSL3 : une nouvelle observation familiale

Auteurs :

Geoffroy Delplancq (1), Sofie Symoens (2), Paul Coucke (2), Elise Brischoux-Boucher (1), Magali Avila (3), Lyse Ruaud (4), Lionel Van Maldergem (1), Juliette Piard (1)

1. Centre de génétique humaine, CHU, Université de Franche-Comté, Besançon, France
2. Centrum voor Medische Genetica, Universitair Ziekenhuis, Gent, Belgique
3. Service d'endocrinologie pédiatrique, CHU, Université de Franche-Comté, Besançon, France
4. Centre de génétique humaine, CHRU Besançon, Université de Franche-Comté, Besançon, France

Mots clefs : PSL3, ostéoporose lié à l'X, fracture, sclérotiques bleutées, entorses, déficience auditive, scoliose, petite taille

Résumé :

Les fragilités osseuses génétiques sont majoritairement liées à des mutations de COL1A1 ou COL1A2 associées à l'ostéogenèse imparfaite (O.I) autosomique dominante. En plus des formes d'O.I récessives autosomiques, certaines formes de fragilité osseuse constitutionnelles peuvent mimer l'O.I. Il est ainsi de celle liée aux mutations de PLS3 (Plastine 3, #MIM 300910), qui déterminent une forme d'ostéoporose précose liée à l'X. Ce gène, situé en Xq23, code pour l'actin-binding protein plastin3, qui participe à la formation des faisceaux de filaments d'actine.
Nous rapportons le cas d'une famille au sein de laquelle quatre sujets masculins présentent des fractures multiples. La généalogie familiale est évocatrice d'un mode de transmission lié à l'X
- le proposant est un garçon de 5 ans dont les antécédents font état de 5 épisodes de fractures, de multiples entorses et d'otites à répétition. L'examen clinique retrouve les sclérotiques bleutées, une dentinogenèse imparfaite, une scoliose et une hyperélasticité cutanée.
- son grand-père, âgé de 65 ans, a présenté lui aussi de multiples et une déficience auditive. Sa taille est modeste (156 cm), ses sclérotiques bleutées et sa dentinogenèse imparfaite.
- le frère de ce dernier (1958-2007) a également un antécédent de fractures multiples, de petitee (155cm) et de scoliose.
- le fils d'une tante maternelle du cas index, âgé de 6 ans, a lui aussi présenté 6 épisodes de fractures. Sa densitométrie osseuse retrouve une ostéopénie. Sa taille est normale, il n'a pas de sclérotiques bleutées.
Chez le proposant, aucune mutation dans les gènes codant le collagène de type Iα1 et Iα2 n'a été retrouvée (COL1A1 et COL1A2). L'étude par CGH-array ciblée (Agilent 60k custom) a montré la présence d'une délétion de l'exon 9 de PLS3 (c.892_987del ; p.298_329del) à l'état hémizygote chez le cas index et son grand-père maternel. Ce résultat établit le diagnostic d'ostéoporose liée à l'X. Sa mère indemne est hétérozygote.
31 patients sont rapportés dans la littérature avec des mutations de PLS3. Le tableau clinique habituel comprend une fragilité osseuse et une ostéopénie à la densitométrie sans toutefois que les signes associés classiques de l'ostéogenèse imparfaite y soient associés: petite taille, sclérotiques bleutées, dentinogenèse imparfaite ou déficience auditive comme observés dans notre famille. Seuls 2 patients, rapportés par Nishi et al en 2016, ont présenté des sclérotiques bleutées et une hyperlaxité articulaire (sans petite taille). Nous proposons donc d'inclure l'ostéoporose liée à l'X dans le diagnostic différentiel de l'O.I, au côté de la forme dominante et des formes récessives.

Ostéoporose liée à I (définitif).doc

P578 - DPC : Molecular testing of a series of Moroccan patients with Noonan Syndrome from Sanger sequencing to NGS

Auteurs :

Saadia Amasdl (1), Najlae Adadi (2), Siham Chafai Elalaoui (2), leila zniber (3), Wiam Smaili (4), Ilham Ratbi (5), Abdelaziz Sefiani (1)

1. Centre de Génomique Humaine, Faculté de Médecine et Pharmacie, Université Mohammed V, Département de Génétique Médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Maroc
2. Département de Génétique Médicale, Institut National d'Hygiène, rabat, Maroc
3. Centre de Cardiologie, Centre de Cardiologie, rabat, Maroc
4. Centre de Génomique Humaine, Faculté de Médecine et Pharmacie, Université Mohammed V, Département de Génétique Médicale, Institut National d'Hygiène, rabat, Maroc
5. Centre de Génomique Humaine, Faculté de Médecine et Pharmacie, Université Mohammed V, rabat, Maroc

Mots clefs : Noonan syndrome, PTPN11, NGS

Résumé :

Noonan syndrome (NS; OMIM 163950) is an autosomal dominant Rasopathy with variable clinical expression and genetic heterogeneity. Clinical manifestations include characteristic facial features, short stature, and cardiac anomalies. Mutations in protein-tyrosine phosphatase, non-receptor-type 11 (*PTPN11*), encoding SHP-2, account for about half of NS patients, *SOS1* in approximately 13%, *RAF1* and *RIT1* each in 5%, and *KRAS* in fewer than 5%. Other genes have been reported to cause NS in fewer than 1% of cases, include *NRAS*, *BRAF*, and *MAP2K1*. Several additional genes associated with a Noonan-syndrome-like phenotype have been identified.
We report molecular analysis of 31 patients with NS phenotype. We firstly screened for *PTPN11* recurrent mutations by Sanger sequencing of exons 3 and 8 in the cohort. Ten patients were carriers (32%). Among the 21 other patients, three of them had NGS panel or exome, that have display three mutations in *NF1*, *SHOC2* and *PTPN11* genes.
Our findings expand the mutation spectrum of Moroccan patients with NS phenotype and highlight the utility of next generation sequencing especially when the disease is heterogeneous.

Molecular testing of a series of of NS.docx

P579 : Les caractéristiques cliniques et génétiques du diabète monogéniques de type MODY et du diabète mitochondrial

Auteurs :

Said TRHANINT (1)

1. Unité de Génétique Médicale et d'oncogénétique, Laboratoire centrale d'analyses Médicales, CHU Hassan II, Fès Maroc., CHU Hassan II, Fès Maroc., fes, Maroc

Mots clefs : Diabète monogénique – MODY – MIDD – diagnostic moléculaire – corrélation phénotype/génotype.

Résumé :

Les caractéristiques cliniques et génétiques du diabète monogéniques de type MODY et du diabète mitochondrial

TRHANINT S[1], OTMANI I[1], AHAKOUD M[1], KETTANI O[1], MODY D. [1], ABBASSI M.[1,] SAYEL H.[1], ABOURAZZAK S[2,3], HIDA M[2,3], BOUGUENOUCH L.[1,3], OULDIM K.[1,3]

1 : Unité de Génétique Médicale et d'oncogénétique, Laboratoire centrale d'analyses Médicales, CHU Hassan II, Fès Maroc.
2 : Service de pédiatrie, hôpital Mère-Enfant, CHU Hassan II, Fès, Maroc.
3 : Faculté de Médecine et de Pharmacie Fès

RESUME
Les diabètes monogéniques, dont les deux principaux types sont le diabète de type MODY et le diabète mitochondrial, représentent 2 à 5% des diabètes non insulinodépendants.
Le diabète MODY est une forme de diabète familial, à transmission autosomique dominante et à début précoce chez l'enfant ou l'adulte jeune, associé à des anomalies primaires de l'insulino-sécrétion. Les phénotypes MODY représentent 1 à 2 % des cas de diabète. Ils se caractérisent le plus souvent par une histoire familiale de diabète de survenue précoce et non insulino-dépendant à sa découverte, chez des sujets sans excès pondéral.
Une dizaine de gènes impliqués dans la régulation de la sécrétion d'insuline au niveau des cellules bêta-pancréatiques sont d'ores et déjà connus.
La majorité des phénotypes MODY 85 % met en cause des mutations hétérozygotes sur les gènes de la glucokinase (GLK) ou du facteur de transcription Hépatocyte Nuclear Factor 1 (HNF1a).
Le diabète mitochondrial est lié à une mutation de l'ARN. La transmission de la mutation se fait selon un mode matrilinéaire. Il se caractérise par l'association d'un diabète, d'une surdité familiale et d'une dystrophie maculaire réticulée.
Au Maroc, le diabète monogénique constitue un des problèmes majeurs de santé publique, donc L'intérêt de ce diagnostic est triple. La reconnaissance d'un diabète monogénique est importante car le diagnostic étiologique a des conséquences pratiques pour les patients :
1-évaluation du pronostic,
2-prise en charge thérapeutique adaptée
3- L'identification d'une mutation chez le cas index permettra de proposer : (i) un diagnostic génétique ciblé aux apparentés diabétiques afin de confirmer l'étiologie de leur diabète, (ii) un diagnostic pré-symptomatique aux apparentés à risque, avec la mise en place éventuelle de mesures préventives et une prise en charge précoce de leur diabète, en particulier pour les femmes avant leur grossesse.

Mots-clés : Diabète monogénique – MODY – MIDD – diagnostic moléculaire – corrélation phénotype/génotype.

diabete mody.docx

P580 : La pycnodystose : à propos de deux cas familiaux

Auteurs :

Souhir Guidara (1), Fatma Abdelhedi (1), Nourhène Gharbi (1), Manel Guirat (1), Lobna Maalej (1), Ines Chaabane (1), Ikhlas Ben Ayed (1), Neila Belguith (1), Hassen kamoun (1)

1. Service de Génétique, Hôpital Universitaire Hédi Chaker, Sfax, Sfax, Tunisie

Mots clefs : Pycnodystose, Fragilité osseuse, consanguinité, Gène CTSK

Résumé :

La pycnodystose est une maladie lysosomale rare caractérisée par une ostéosclérose du squelette, une petite taille et une fragilité osseuse. Cette maladie, de transmission autosomique récessive, est liée à un déficit en cathepsine K, enzyme jouant un rôle primordial dans la résorption osseuse par les ostéoclastes. Le diagnostic est clinique et doit être confirmé par un examen radiographique complet du squelette et des radiographies du crâne.
Nous rapportons le cas de deux enfants (frère et sœur) atteints de pycnodystose et discutons l'intérêt de l'étude moléculaire dans cette pathologie et de l'établissement d'un diagnostic précoce pour une meilleure pise en charge thérapeutique.
Il s'agit des deux enfants : A (âgé de 13 ans) et sa sœur Y âgée de 8 ans, issus d'un mariage consanguin, adressés à notre consultation pour des fractures à répétition. L'examen a objectivé, chez les deux enfants, une dysmorphie faciale avec un visage allongé, des sourcils arqués raréfiés aux extrémités, des yeux globuleux, un nez en bec avec une racine haute et une columelle saillante, et un retrognathisme. Cette dysmorphie faciale est associée à un nanisme, une mal implantation dentaire, une brachydactylie et des pouces larges. Le développement psychomoteur est normal pour les deux enfants. Le bilan radiologique a objectivé une augmentation diffuse de la densité osseuse. Le caryotype sanguin en bande G pratiqué chez les deux enfants est sans anomalies. Le diagnostic de pycnodystose a été alors retenu devant ces critères cliniques et radiologiques. L'étude moléculaire à la recherche de mutations dans le gène *CTSK* est en cours.
La prise en charge de la pycnodystose est symptomatique et multidisciplinaire. Elle inclut une surveillance orthopédique, une prise en charge des fractures et une surveillance de la statique vertébrale afin de dépister les fréquents spondylolisthésis. Le traitement bucco-dentaire repose sur la prévention de la pathologie carieuse et parodontale.La précocité de l'établissement du diagnostic permet une meilleure prise en charge thérapeutique de ces patients et de limiter les complications liées à la pathologie.

pycnodystose VF.docx

P581 : Syndrome de Melnick-Needles : 1ère Observation Marocaine

Auteurs :

KENZA DAFIR (1), mariam tajir (2), hassan akallakh (1), NISRINE ABOUSSAIR (3)

1. SERVICE DE Génétique, chu mohammed VI marrakech, MARRAKECH, Maroc
2. SERVICE DE Génétique, Faculté de médecine de Oujda, oujda, Maroc
3. SERVICE DE Génétique, Faculté de médecine et de pharmacie de Marrakech, MARRAKECH, Maroc

Mots clefs : Syndrome de Melnick-Needles, diagnostc clinique, diagnostic radiologique

Résumé :

Le syndrome de Melnick-Needles (OMIM : 309350) est une ostéodysplastie rare qui associe une dysplasie squelettique, avec des os longs courbés, une sclérose de la base du crâne, et des côtes en forme de ruban, et un visage caractéristique avec un front hirsute, rebord supra-orbital proéminent, yeux proéminents, joues bombées et microrétrognathie marquée. Le développement mental est normal. Il s'agit d'une affection liée à l'X. Environ 50 cas ont été rapportés, la plupart d'entre eux sont sporadiques. La maladie est létale chez les garçons, avec une expression moindre chez les femmes atteintes. Ce syndrome est dû à des mutations dans le gène FLNA qui code pour une protéine du cytosquelette, la filamine A. Son pronostic est variable, il dépend du sexe et des signes présentés. Sa prise en charge est multidisciplinaire adaptée à chaque patient.
Nous rapportons la première observation marocaine du syndrome de Melnick-Needles, chez une patiente adressée en consultation de génétique médicale du CHU Mohammed VI de Marrakech pour un syndrome dysmorphique associé à des anomalies osseuses. Le tableau clinique ainsi que les explorations radiologiques nous ont permis de retenir le diagnostic du syndrome de Melnick-Needles chez notre patiente.
A travers ce travail, nous mettons en exergue le rôle du généticien dans le diagnostic et la prise en charge de cette pathologie ainsi que dans l'élaboration d'un conseil génétique adéquat.

P582 : Syndrome de Dyggve-Melchior-Clausen : à propos de 02 observations marocaines.

Auteurs :

KENZA DAFIR (1), mariam tajir (2), hassan akallakh (1), NISRINE ABOUSSAIR (3)

1. SERVICE DE Génétique, chu mohammed VI marrakech, MARRAKECH, Maroc
2. SERVICE DE Génétique, Faculté de médecine de Oujda, oujda, Maroc
3. SERVICE DE Génétique, Faculté de médecine et de pharmacie de Marrakech, MARRAKECH, Maroc

Mots clefs : Le syndrome de Dyggve-Melchior-Clausen , aspects cliniques et radiologiques

Résumé :

Le syndrome de Dyggve-Melchior-Clausen (OMIM: 223800, 304950) est une osteochondrodysplasie rare, appartenant au groupe des dysplasies spondylo-épimétaphysaires. Cliniquement, il se caractérise par un nanisme progressif, un visage de surcharge, un tronc court, des anomalies des membres et un retard mental de sévérité variable. C'est une maladie génétique rare de transmission autosomique récessive due à des mutations du gène DYM situé en18q21.1. Plusieurs mutations ont été rapportées dans ce gène, dont la mutation marocaine récurrente c.1878delA (p.K626NfsX94).
Nous rapportons dans ce travail deux observations marocaines familiales, adressées en consultation de génétique médicale du CHU Mohammed VI de Marrakech, pour un nanisme dysharmonieux associé à un retard mental. Les signes radiologiques incluant une platyspondylie, une double ondulation des plateaux vertébraux, une dysplasie épiphyso-métaphysaire et un aspect festonné des ailes iliaques ainsi que les signes cliniques ont permis de retenir le diagnostic du syndrome de Dyggve-Melchior-Clausen.
A travers ce travail, nous soulignons le rôle du généticien dans le diagnostic et la prise en charge de cette pathologie, ainsi que dans l'élaboration un conseil génétique adéquat.

P583 : Le registre Français de la glycogénose de type III : caractérisation des relations génotype-phénotype, structuration de la prise en charge des patients de l'enfance à l'âge adulte, et étude de l'histoire naturelle de la maladie.

Auteurs :

Pascal Laforet (1), Ariane Perry (2), Dalila Habes (3), Kahina Kachetel (4), Aurélie Hubert (2), Karim Wahbi (5), Manuel Schiff (6), Samia Pichard (6), Anais Brassier (7), Pascale De Lonlay (7), Aline Cano (8), Alexandre Fabre (8), Brigitte Chabrol (8), Maud Michaud (9), Armelle Magot (10), Christian Lavigne (11), François Maillot (12), Claire Gay (13), Valérie Decostre (4), Jean-Yves Hogrel (4), François Petit (2), Philippe Labrune (2)

1. Service de Neurologie, centre de référence des maladies neuromusculaires Nord/Est/Ile de France, Hôpital Raymond Poincaré, Paris, France
2. Centre référence maladies héréditaires du métabolisme hépatique, Hôpital Antoine Béclère, Clamart, France
3. Service d'hépatologie, Hôpital de Bicêtre, Kremlin-Bicêtre, France
4. Institut de Myologie, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France
5. Service de Cardiologie, Hôpital Cochin, Paris, France
6. Service de Neurologie Pédiatrique et Maladies Métaboliques, Hôpital Robert Debré, Paris, France
7. Centre de référence des maladies métaboliques, Hôpital Necker, Paris, France
8. Centre de Référence des Maladies Héréditaires du Métabolisme , CHU Timone Enfants- Marseille, Marseille, France
9. Service de Neurologie, Hôpital Central, Nancy, France
10. Centre de référence des maladies neuromusculaires Nantes-Angers, CHU de Nantes Hôtel Dieu, Nantes, France
11. Médecine interne et maladies vasculaires, CHU Angers, Angers, France
12. Service de Médecine Interne, CHRU de Tours, Tours, France
13. Centre de Compétence maladies héréditaires du métabolisme Service de Pédiatrie, CHU Hôpital Nord, Saint Etienne, France

Mots clefs : Glycogénose musculaire, glycogénose hépatique, registre

Résumé :

La glycogénose de type III est une maladie métabolique rare de transmission autosomique récessive, en rapport avec un déficit de l'enzyme débranchante, produit du gène *AGL*. Cette maladie appartient à la fois au groupe des maladies du métabolisme hépatique et au groupe des glycogénoses musculaires. Son évolution est stéréotypée, en deux temps, avec principalement une atteinte métabolique dans l'enfance qui s'améliore autour de la puberté laissant la place à une atteinte musculaire (intolérance à l'effort, puis faiblesse musculaire permanente). Une atteinte cardiaque est également fréquemment observée, sans corrélation évidente avec la durée d'évolution de la maladie ni avec la gravité de l'atteinte musculaire. L'histoire naturelle de cette maladie reste mal connue, et en particulier l'évolution à long terme des manifestations hépatiques, musculaires et cardiaques, en raison de l'absence de suivi prospectif à ce jour de larges cohortes de patients comprenant à la fois les enfants et les adultes.

L'objectif du registre de la glycogénose de type III, créé en 2014, est de collecter les données épidémiologiques, cliniques, biologiques, et thérapeutiques des patients atteints de glycogénose de type III en France, avec un suivi prospectif de l'ensemble des patients. Le recueil des informations et leur exhaustivité ont été rendus possibles grâce au travail en réseau qui s'est établi par l'intermédiaire des filières maladies rares métaboliques (G2M) et neuromusculaires (FILNEMUS).

En 2017, 9 centres ont été ouverts et ont inclus 56 patients. 26 enfants (de 2 à 18 ans avec un âge moyen de 10 ans), et 30 adultes (de 20 à 68 ans avec un âge moyen de 37 ans). Une première analyse des données moléculaires a montré une grande variabilité dans les anomalies de séquence retrouvées, soulignant le caractère souvent privé de l'atteinte moléculaire, exception faite de certains groupes éthno-géographiques (notamment les mutations c.1078C > T dans la population Juive Séfarade et c.3216_3217delGA dans la population du Maghreb). Jusqu'à présent, il n'a pas été possible d'établir de relation génotype/phénotype du fait de la diversité des anomalies de séquence retrouvées, de la fréquence très élevés de mutations créant un codon stop prématuré et du grand nombre de polymorphismes présents dans le gène *AGL* pouvant potentiellement moduler l'activité enzymatique, aussi bien pour les manifestations hépatiques que musculaires ou cardiaques.

Sur le plan musculaire, 9 patients (soit 17 %), tous adultes, présentaient des difficultés à la marche, dont 3 nécessitaient un fauteuil roulant. 22 patients (soit 41%) présentaient une cardiomyopathie hypertrophique dont 9 seulement étaient symptomatiques et bénéficiaient d'un traitement. Une insuffisance respiratoire restrictive modérée était observée chez 4 patients. Enfin, 60% des 25 patients ayant bénéficié d'une ostéodensitométrie présentaient une ostéopénie, tandis que 12 % présentaient une ostéoporose.

P584 : Les aspects cliniques de la Pycnodysostose : 1ère série du service de génétique du CHU Mohammed VI de Marrakech

Auteurs :

KENZA DAFIR (1), Fatimazzahra Bouzid (1, 2), hassan akallakh (1), NISRINE ABOUSSAIR (2)

1. SERVICE DE Génétique, chu mohammed VI marrakech, MARRAKECH, Maroc
2. SERVICE DE Génétique, Faculté de médecine et de pharmacie de Marrakech, MARRAKECH, Maroc

Mots clefs : Pycnodysostose, fragilité osseuse, conseil génétique

Résumé :

La pycnodysostose (OMIM : 265800) est une maladie génétique lysosomale caractérisée par une ostéosclérose du squelette, une petite taille et une fragilité osseuse. La pycnodysostose est très rare, sa prévalence exacte est inconnue mais elle est inférieure à 1/100 000. La maladie est découverte à un âge variable, allant de 9 mois à 50 ans. Elle est due à des mutations du gène de la cathepsine K (localisé en 1q21), une enzyme lysosomale secrétée par les ostéoclastes qui permet le clivage des protéines de la matrice osseuse. La transmission est autosomique récessive.
Nous rapportons dans ce travail la première série de cas de pycnodysostose colligée au service de génétique médicale du CHU Mohammed VI de Marrakech. Tous les patients ont été adressés pour fragilité osseuse et retard statural. L'étude généalogique, le tableau clinique incluant une dysmorphie faciale caractéristique ainsi que le bilan radiologique nous ont permis de retenir le diagnostic de pycnodysostose.
A travers ce travail, nous mettons en exergue le rôle du généticien dans le diagnostic et la prise en charge de cette pathologie ainsi que dans l'élaboration d'un conseil génétique adéquat.

P585 : Identification de nouveaux variants du gène NDUFS6 responsables d'un syndrome de Leigh avec déficit multiple de la chaine respiratoire mitochondriale et défaut d'assemblage du complexe I

Auteurs :

Cécile Rouzier (1), Annabelle Chaussenot (2), Konstantina Fragaki (2), Valérie Serre (3), Christian Richelme (4), Gaelle AUGE (1), Mathieu BERTHET (1), Sylvie Bannwarth (2), Véronique Paquis-Flucklinger (2)

1. Service de Génétique, CHU de NICE, NICE, France
2. Department of Medical Genetics, National Centre for Mitochondrial Diseases, Nice Teaching Hospital, NICE, France
3. UMR7592 CNRS, Jacques Monod Institute, Paris Diderot University, PARIS, France
4. Service de pédiatrie, Fondation Lenval, NICE, France

Mots clefs : Leigh, maladie mitochondriale, NDUFS6, complexe I

Résumé :

Le gène *NDUFS6* code pour une sous-unité du complexe I de la chaine respiratoire mitochondriale. Ce complexe composé de 45 sous-unités est impliqué dans le transfert d'électrons du NADH aux autres complexes de la chaine respiratoire. A ce jour, seulement deux publications rapportent des mutations du gène *NDUFS6.* Les enfants décrits sont tous décédés en période néonatale dans un contexte d'acidose lactique sévère associée à un déficit en complexe I de la chaine respiratoire. Nous rapportons 2 nouveaux variants pathogènes, un variant faux sens localisé dans le domaine zinc finger (c.343T > C, p.Cys115Arg) et un variant affectant l'épissage de l'ARNm (c.309+5G > A) chez un enfant présentant un syndrome de Leigh et un déficit multiple de la chaine respiratoire, diagnostiqué dans le Centre de Référence des Maladies Mitochondriales CALISSON, Euro-NMD. Ce nouveau cas élargit le spectre clinique associé aux mutations du gène *NDUFS6*, de façon similaire à ce qui a été observé avec les mutations des autres gènes codant des sous unités du complexe I. De plus, nous montrons que ces mutations entrainent un défaut d'assemblage du complexe I, confirmant que la présence de NDUFS6 et l'intégrité du domaine zinc finger sont indispensables à un assemblage correct du complexe I.

P586 : Aspects cytogénétiques de la Leucémie aigue myéloïde: A propos de87 cas

Auteurs :

Hanane AITHAMMOU (1), meriem elqabli (1), zineb lout (1), mariam sennaoui (1), ali jamal (1), mustapha dbilig (1), hassan akallakh (1), NISRINE ABOUSSAIR (2)

1. SERVICE DE Génétique, chu mohammed VI marrakech, MARRAKECH, Maroc
2. SERVICE DE Génétique, Faculté de médecine et de pharmacie de Marrakech, MARRAKECH, Maroc

Mots clefs : LAM, aspects cytogénétique, caryotype oncohématologique, FISH, CHU Mohammed VI, Marrakech

Résumé :

Introduction:
Les Leucémies Aiguës Myéloïdes (LAM) sont un groupe hétérogène d'hémopathies malignes. Elles sont caractérisées par un blocage de la différenciation et une prolifération clonale des précurseurs myéloïdes. Ces deux caractéristiques sont la conséquence de deux types de mutations; la première affecte des récepteurs à activité tyrosine kinase ou des enzymes clés de signalisation cellulaire en apportant ainsi des avantages proliératifs, tandis que la deuxième affecte les facteurs de la transcription en induisant un blocage de la différenciation cellulaire. La principale conséquence de ces mutations est l'installation d'un tableau d'insuffisance médullaire associant une neutropénie, une anémie et une thrombopénie.
Patients et méthodes : Ce travail consisite en une étude rétrospective portant sur 87 cas de LAM adressés au service de génétique du CHU Mohammed VI de Marrakech pour étude cytogénétique chez qui un caryotype hématologique sur moelle a été réalisé avec une culture de 17h sous colchicine, complété dans certains cas par une FISH (hybridation in situ en fluorescence)
Résultat:L'âge des patients de notre étude variait de 7 mois à 86 ans avec un âge moyen de 34,6 ans. Dans notre étude le diagnostic cytogénétique par caryotype ou FISH a permis de mettre en évidence des anomalies chromosomiques dans 56.25% des cas, dont 30% anomalies de structure et 17.5% anomalies de nombre. Par ailleurs, le caryotype complexe a été retrouvé dans 8.75% des cas. Par ailleurs, le sous-type le plus fréquent dans cette étude était la LAM4 (16.09%, N 14), suivi de la LAM1 (14.94%, N13). Tandis que le sous-type LAM5 n'a pas été retrouvé. Cependant, les LAM non classées représentent 32.18% des cas de notre série. **Conclusion** Nous rapportons à travers ce travail l'expérience du service de génétique du CHU Mohammed VI de Marrakech dans le diagnostic cytogénétique des LAM et l'implication de l'équipe dans la prise en charge multidisciplinaire de cette pathologie

P587 : Nouvelle mutation intronique de LRP5 responsable de l'ostéoporose idiopathique: implication de la voie de signalisation wnt non canonique

Auteurs :

Corinne COLLET (1), Eric HAŸ (2), Manon RICQUEBOURG (3), Thomas FUNCK-BRENTANO (4), Martine COHEN-SOLAL (5)

1. Département de Biochimie et de Biologie Moléculaire, Inserm 1132, Hôpital Lariboisière, PARIS, France
2. Inserm 1132, Bioscar, Hôpital Lariboisière, Paris, France
3. Inserm 1132, Bioscar, hôpital Lariboisière, Paris, France
4. Service de Rhumatologie Inserm 1132, hôpital Lariboisière, Paris, France
5. Service de Rhumatologie Inserm 1132, Hôpital Lariboisière, PARIS, France

Mots clefs : wnt LRP5 ostéoporose

Résumé :

Introduction :
L'ostéoporose idiopathique du sujet jeune est une pathologie rare de déterminisme génétique fort. Trois gènes causals majeurs y sont associés dont *LRP5* (MIM 166710) dont le mode de transmission est autosomique dominant. La recherche de mutation par Séquençage Nouvelle Génération (NGS) à l'aide d'un panel de gènes responsables de fragilité osseuse, a permis d'identifier, une nouvelle mutation d'épissage dans *LRP5* chez 2 patients non apparentés atteints d'ostéoporose sévère. Le but de ce travail est d'étudier l'impact fonctionnel de cette mutation.
Matériels et Méthodes :
Le séquençage NGS ciblé inclut la préparation de la librairie à l'aide de réactifs Sureselect QXT (Agilent) à partir de sondes de gènes précités et un séquençage sur un Miseq (Illumina). Les données bioinformatiques ont été analysées à l'aide du logiciel SeqNext (JSI Medical Systems). Une quantification transcriptionnelle de différentes cibles a été effectuée à partir de lymphocytes immortalisées de patients et de contrôles. Les lymphocytes ont été cultivés en présence ou absence de Wnt3a pour analyser la voie de signalisation Wnt/b-caténine.
Résultats:
Le patient 1 est un homme de 40 ans présentant 2 tassements vertébraux (Z-score : -4.1 SD au rachis et - 2.6 SD au fémur) avec antécédents de fractures dans l'enfance. Le patient 2 est une femme de 50 ans a des tassements vertébraux (Z-scores : -4.9 SD au rachis et - 2.5 SD au fémur) avec antécédent de fracture de la clavicule à 14 ans. A l'aide de séquençage ciblé, une nouvelle mutation dans le site accepteur d'épissage de *LRP5*, c.1413-2A>G (NM_002335.3), a été identifiée chez ces 2 patients non apparentés. Le variant ségrége avec le phénotype ostéoporotique au sein de la famille du patient 1.
L'étude fonctionnelle réalisée sur lymphocytes immortalisés montre que ce variant est responsable d'un saut de l'exon 7 de *LRP5* avec présence d'un codon stop en c.1414 à l'origine d'une protéine tronquée de 472 acides aminés. En présence de Wnt3a, la mutation entraine une augmentation de la transcription de l'*AXIN2* indiquant l'activation de la voie canonique de la b-caténine. Parallèlement, l'expression du récepteur ROR2, un acteur de la voie wnt non canonique, est fortement diminuée. Ceci est associé à une diminution du ratio d'expression de RANKL/OPG. L'ensemble de ces résultats suggèrent l'existence d'une voie de signalisation non canonique alternative à celle de la voie canonique de Wnt.
Discussion:
Cette étude confirme l'effet pathogène d'une nouvelle mutation intronique du gène LRP5 c.1413-2A>G. Elle indique une interaction entre les voies de signalisation wnt canonique et non canonique.
Conclusion:
Des mutations de LRP5 semblent moduler la formation osseuse indépendamment de la voie canonique de Wnt.

P588 : Identification de deux changements nucléotidiques au niveau du gène MT-ND1 chez des patients atteints de myopathies mitochondriales.

Auteurs :

Raouia GHORBEL (1), Rania GHORBEL (1), Chahnez Triki (2), Mongia Hachicha (3), Leila Ammar-Keskes (1), Faiza Fakhfakh (4)

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
4. Laboratoire de Génétique Moléculaire et Fonctionnelle, Faculté des Sciences de Sfax, Tunisia, Sfax, Tunisie

Mots clefs : myopathies mitochondriales, MT-ND1

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 *ARNt*^{Leu} et *MT-ND1* chez deux patients atteints de myopathies mitochondriales. Cette recherche a été réalisée par le séquençage direct de ces gènes.
Le séquençage du gène codant l'*ARNt*^{Leu} avec les séquences flanquantes couvrant une région du gène de l'*ARNr16S* et une autre du gène codant la sous-unité 1 du complexe 1 de la chaine respiratoire mitochondriale *(MT-ND1)* a montré la présence d'une transition T3308C (m.3308 T > C) au niveau du gène *MT-ND1* chez un patient. Ce changement nucléotidique entraine la substitution de l'acide aminé Méthionine en Thréonine au niveau de la position 1 de la protéine de la sous-unité 1 de la NADH déshydrogénase mitochondriale (p.M1T).
L'alignement de la séquence en acide aminée de la protéine de la sous-unité 1 de la NADH déshydrogénase mitochondriale chez plusieurs espèces a montré que ce changement nucléotidique est situé dans une région hautement conservée.
De plus, une transition A3384G (m.3384 A > G) a été détectée au niveau du gène *MT-ND1* chez un deuxième patient. Cette transition ne provoque pas un changement au niveau de la séquence des acides aminés à la position 26 de la protéine (p.K26K).
Le séquençage des gènes codant l'*ARNt*^{Leu} et l'*ARNr16S* n'a montré aucun changement nucléotidique chez les patients étudiés.
En conclusion, cette étude a permis d'identifier deux changements nucléotidiques décrits au niveau du gène *MT-ND1* chez deux patients atteints de myopathies mitochondriales.

Résumé Raouia Ghorbel_Assise Génétique_2017.docx

P589 : Etude sur 23 ans du devenir cognitif de 72 patients phénylcétonuriques dépistés en période néonatale

Auteurs :

YVAN HERENGER (1), EMMANUELLE MAES (1), LAURENT FRANCOIS (1), SAMIA PICHARD (1), HELENE OGIER DE BAULNY (1), MANUEL SCHIFF (1, 2)

1. Centre de Référence des Erreurs Innées du Métabolisme, CHU Robert Debré, APHP, PARIS, France
2. UMR1141, PROTECT, INSERM, Université Paris Diderot, Sorbonne Paris Cité, PARIS, France

Résumé :

Phenylketonuria (PKU) is a recessively inherited disorder of phenylalanine catabolism (MIM #261600), which is efficiently treated thanks to a protein-restricted diet and/or cofactor (tetrahydrobiopterin, BH4) supplementation. Recently, cognitive suboptimal outcome in appropriately treated adults pointed out the necessity of maintaining diet rules in adulthood. Materials and Methods: 72 PKU patients diagnosed, followed-up and treated with low-protein diet and/or BH4 supplementation since screening in the newborn period underwent four neuropsychological evaluations from age 2-4 years to late childhood (15-16 years of age), performed by the same trained neuropsychologist. Traditional PKU classification was used to include the patients into 2 groups: Classical PKU patients defined by phenylalanine (Phe) blood levels at screening greater than 1200 μmol/L (20 mg/dL); moderate PKU patients (600-1200 μmol/L). Mild hyperphenylalaninemia patients (300-600 μmol/L) were excluded. Chronological evolution of cognitive functions are described and compared between classical and moderate PKU patients.
Results: cognitive functions showed a subtle impairment in performance IQ compared to verbal IQ in PKU patients irrespectively of the clinical form. When compared, moderate and classical PKU patients displayed significant different features. Moderate and classical PKU patients both had normal IQ, although IQ of moderate PKU patients was significantly higher than IQ of classical PKU patients both for global IQ (107 vs 90 $p = 0.0014$) and verbal IQ (115 vs 96 $p = 0.0002$), independent from diet compliance. For the sole classical patients, there was a trend to a decrease of IQ with time.
Conclusions: Our data provide longitudinal extensive neurocognitive characterisation of a cohort of 72 PKU patients evaluated by the same neuropsychologist over a 23-year period.

P590 : Etude moléculaire du gène DMD par PCR multiplex : Première série du service de génétique du CHU Mohammed VI-Marrakech

Auteurs :

meriem elqabli (1), maria mansouri (1), KENZA DAFIR (1), Fatimazzahra Bouzid (1, 2), hassan akallakh (1), NISRINE ABOUSSAIR (2)

1. SERVICE DE Génétique, chu mohammed VI marrakech, MARRAKECH, Maroc
2. SERVICE DE Génétique, Faculté de médecine et de pharmacie de Marrakech, MARRAKECH, Maroc

Mots clefs : Dystrophie musculaire de Duchenne , gène DMD, PCR Multiplex, CHU de Marrakech

Résumé :

La dystrophie musculaire de Duchenne (DMD) est la maladie neuromusculaire génétique la plus fréquente chez l'homme avec une incidence de 1 sur 3500 à 6000 naissances vivantes masculines. Il s'agit d'une pathologie de transmission récessive liée à l'X résultant d'un défaut du gène de la dystrophine situé sur Xp21.2. Les délétions du gène de la dystrophine représentent 65% des mutations chez les patients atteints de DMD.
Dans ce travail, nous rapportons les résultats de l'étude moléculaire du gène DMD par PCR multiplex chez la première série de patients adressés au service de génétique du CHU Mohammed VI de Marrakech pour une étude moléculaire.
La PCR multiplex a confirmé le diagnostic chez 10 patients. Parmi les 10 délétions détectées, 70% siègent dans les deux régions connues des zones chaudes avec respectivement 57% au niveau de la partie centrale du gène et 43% au niveau de l'extrémité 5'. Par ailleurs, des délétions des exons17, 43 et 50 ont été retrouvées dans notre série. Ces résultats sont comparables à ceux rapportés dans d'autres études.

P591 : Ataxies spino-cérébelleuses : la place des biomarqueurs à l'aube des essais cliniques

Auteurs :

Isaac Adanyeguh (1), Perlbarg Vincent (2), Farid Ichou (3), Elodie Petit (4), Pierre-Gilles Henry (5), Ivan Moszer (2), Alexis Brice (1), Arthur Tenenhaus (2), Alexandra Durr (4), Fanny Mochel (4)

1. INSERM UMR S1127, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France
2. Bioinformatics and Biostatistics Core Facililty, iCONICS, Institut du Cerveau et de la Moelle épinière (ICM), Paris, France
3. Plateforme de Métabolomique, Institut Cardio-Métabolique (ICAN), Paris, France
4. Département de Génétique, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France
5. Center for Magnetic Resonance Research, University of Minnesota, Minneapolis, Etats-Unis

Mots clefs : Ataxie spino-cérébelleuse, bio marqueurs, volumétrie, tractographie, métabolomique, intégration multimodale

Résumé :

Les ataxies spinocérébelleuses (ASC) de types 1, 2, 3 et 7 sont des maladies neurodégénératives autosomiques dominantes par expansions de triplets CAG. Elles sont responsables de syndromes cérébelleux mais également d'atteintes pyramidale, neuropathique et extrapyramidale. Les patients ASC7 présentent par ailleurs une dégénérescence rétinienne, et parfois une cardiopathie, évocatrices d'une dysfonction mitochondriale. Les avancées de la thérapie génique dans les ASC laissent entrevoir les premiers essais cliniques prochainement. Les scores cliniques (SARA et CCFS) sont largement utilisés pour évaluer la dysfonction clinique des patients mais leur taille d'effet est insuffisante pour les essais cliniques en raison du nombre de patients qu'il serait nécessaire d'inclure. D'autre part, les scores cliniques ne pourront, par définition, pas être utilisés chez les individus présymptomatiques. Il est donc indispensable d'identifier des marqueurs robuste de progression de la maladie avec une taille d'effet importante.
Nous avons mené une large étude longitudinale sur 2 ans auprès d'une cohorte de patients atteints de ASC1 (n = 15), ASC2 (n = 12), ASC3 (n = 20) et ASC7 (n = 10) et 24 témoins d'âge, de sexe et d'indice de masse corporelle comparables. En dehors des évaluations cliniques, nous avons développé des nouveaux outils d'étude du volume cérébral, notamment le cervelet et le pont, et des faisceaux de fibres – en tenant compte de leur croisement – permettant de quantifier leur diamètre et leur densité. Nous avons également réalisé des études métabolomiques et lipidomiques à partir du plasma des patients et des témoins.
Comparativement aux témoins, sur deux ans nous avons observé chez les patients (i) une aggravation clinique significative, (ii) une majoration significative de l'atrophie du cervelet et du pont, et (iii) une atteinte des fibres du circuit cortico-spinal à la fois dans leur diamètre et leur densité. Plus particulièrement, les tailles d'effet des paramètres d'imagerie se sont avérés deux à trois plus importantes que les scores cliniques. Les études métabolomiques ont par ailleurs permis d'identifier des anomalies du métabolisme de la kynurénine chez les patients atteints de ASC7 – à considérer dans le cadre de leur atteinte mitochondriale. Grâce à l'intégration multimodale de ces données par des approches multi-blocs, nous sommes en mesure d'évaluer les variables ayant le plus de poids dans l'évolution de la maladie.
En conclusion, nous recommandons dès à présent l'utilisation des marqueurs d'imagerie mis en évidence par volumétrie et analyse de fibres dans les essais de thérapie génétique à venir chez les patients atteints d'ASC. L'utilisation d'outils innovants d'intégration de différentes modalités peut également permettre d'établir un modèle de la pathologie au cours du temps.

P592 : Angioedème héréditaire avec déficit en C1 inhibiteur : cohorte française de 184 mutations SERPING1 dans 317 familles.

Auteurs :

Gaëlle Hardy (1), Denise Ponard (2), Federica Defendi (2), Joël Lunardi (1), Centre de Référence des Angioedèmes à kinines CREAK (3), Christian Drouet (4), Julien Fauré (1)

1. Laboratoire de Biochimie Génétique et Moléculaire, CHU Grenoble Alpes, Grenoble, France
2. Laboratoire d'Immunologie, CHU Grenoble Alpes, Grenoble, France
3. , CHU Grenoble Alpes, Grenoble, France
4. GREPI, UE7408, Université Grenoble Alpes, Grenoble, France

Mots clefs : hereditary angioedema, C1 inhibitor, SERPING1

Résumé :

Hereditary angioedema with C1 Inhibitor deficiency (C1-INH-HAE) is a rare autosomal dominant disease caused by mutations in the *SERPING1* gene. C1 Inhibitor (C1Inh) deficiency leads to uncontrolled contact-phase activation, with subsequent generation of the vasoactive peptide bradykinin. Patients present with non-pruritic, subcutaneous and submucosal episodes of localized swelling in the extremities, face, gut or upper airways. Larynx oedema due to upper respiratory mucosa involvement can lead to fatal asphyxia.
We report on the genetic analysis of a French cohort of 526 patients from 317 unrelated families with a clinical and biological diagnosis of C1-INH-HAE. Patients were recruited via the French Reference Centre for Kinin Angioedema (CREAK). Direct Sanger sequencing and Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification was performed after C1Inh activity was reported altered, and we could identify a causative *SERPING1* gene variant in 90 % of the patients.
A total of 184 distinct variants in the *SERPING1* gene were identified, including 105 novel variants, with 40 % of missense variants, 32.7 % of nonsense or frameshift variants, 13.2 % of large deletions/insertions, 10.8 % of splice defects and 3.1 % of short in frame deletions/insertions. In 15 patients, a *de novo* mutation was confirmed by a segregation analysis. Two patients with a variation on each *SERPING1* allele were diagnosed, one homozygous and a compound heterozygous. Notably, eight likely pathogenic mutations were found in intron 1, highlighting the importance of sequencing the non-coding exon 1 and exon 2 boundaries.
On the basis of an estimated prevalence of 1:50 000, this cohort would represents 39 % of the carriers patients in France. However, the presence of three of the reported variants in the gnomAD database set the higher estimation of the prevalence to 1:15 000. Because the penetrance of the disease is probably lower than estimated, many patients might be underdiagnosed. Molecular diagnosis, rather than only C1Inh assay, should be more systematically undertook to improve family screening of C1-INH-HAE.

P593 : Diagnostic génétique de la fièvre méditerranéenne familiale:à propos de 44 cas

Auteurs :

Mohamed Ahakoud (1), Oussama Kettani (1), Said Trhanint (1), Ihsane El Otmani (1), Hanane Sayel (1), Meriame Abbassi (1), Mody Diop (1), Hanane Baybay (2), Fatima Zahra Mernissi (2, 3), Karim Ouldim (1, 4), Laila Bouguenouch (1, 5)

1. Unité de Génétique médicale et Oncogénétique, CHU Hassan II Fès, Fès, Maroc
2. Service de Dermatologie, CHU Hassan II Fès, Fès, Maroc
3. Professeur d'enseignement supérieur, Faculté de médecine et de pharmacie, Fès, Maroc
4. Professeur Agrégé, Faculté de médecine et de pharmacie, Fès, Maroc
5. Professeur assistant, Faculté de médecine et de pharmacie, Fès, Maroc

Mots clefs : Maladie périodique, Fièvre méditerranéenne familiale, Gène MEFV, autosomique récessive

Résumé :

Introduction:
La maladie périodique (fièvre familiale méditerranéenne) est une maladie héréditaire, à transmission autosomique récessive, faisant partie des maladies auto-inflammatoires. Elle est caractérisée par des épisodes récidivants, de courte durée (en moyenne 24 à 72 heures) et de résolution spontanée, comportant de la fièvre et l'inflammation d'une séreuse. Le gène responsable de la fièvre familiale méditerranéenne, appelée MEFV, est situé sur le chromosome 16 (16p13) et code pour la protéine pyrine-marénostrine.La complication la plus sévère à long terme est l'amylose AA qui atteint surtout les reins et peut entraîner une insuffisance rénale chronique.
Materiels et methodes :
Quarante quatre malades appartenant à trente sept familles d'origines diverses ont été étudiés.
Les mutations du gène MEFV ont été cherchées par séquençage classique de l'exon 2 et 10 chez tous les malades.
Résultats :
Une mutation a été détecté chez 16 patient (36 %) et aucune mutation n'a été détecté chez 28 patients (64%).
Conclusion :
L'analyse moléculaire du gène MEFV permet de faire un diagnostic direct chez des patients présentant des signes évocateurs de FMF, facilitant la mise en place d'un traitement approprié. Les tests génétiques complètent donc utilement le diagnostic clinique, qui reste un diagnostic d'exclusion.Les analyses moléculaires ne rendent compte de la maladie que chez un nombre limité de patients, ce qui pose la question de l'implication d'autres gènes dans ces affections.

Diagnostic génétique de la fièvre méditerranéenne familiale chez 44 malades.docx

P594 : DIAGNOSTIC MOLECULAIRE DU GENE XPC CHEZ UNE POPULATION MAROCAINE ATTEINTE DE XERODERMA PIGMENTOSUM: A PROPOS DE 11CAS

Auteurs :

meriame abbassi (1), hanane sayel (1), mohammed ahakoud (1), oussama kettani (1), mody diop (1), said tranint (1), ihssane el otmani (1), hanane baybay (2, 3), fatima-zahra mernissi (4, 3), karim ouldim (1, 3), laila bouguenouch (1, 3)

1. Génétique Médicale et d'oncogénétique, Centre Hospitalier Universitaire Fès Maroc, fès, Maroc
2. Dermatologie, Centre Hospitalier Universitaire Fès Maroc, fès, Maroc
3. Faculté de Médecine et de Pharmacie, Univetsité Sidi Mohammed Benabdellah, fès, Maroc
4. Dermatologie, Centre Hospitalier Universitaire, fès, Maroc

Mots clefs : Xeroderma Pigmentosum (XP), gène XPC, analyse moléculaire, Conseil génétique

Résumé :

Le Xeroderma Pigmentosum (XP), est une maladie autosomique récessive rare dont la prévalence est d'environ 1 sur 1 million aux USA et en Europe et peut atteindre 1 sur 100 000 en Afrique du Nord, Elle est caractérisée par une sensibilité accrue aux UV et à la lumière du soleil. Sans une photoprotection totale et efficace, les malades subissent un vieillissement accéléré de la peau, des brulures, des troubles de la pigmentation et le développent inévitable de lésions des yeux et de la peau pouvant conduire à de multiples cancers cutanéomuqueux. Sa transmission sur le mode autosomique récessive explique sa relative fréquence dans les pays où la consanguinité est élevée et la taille des familles est grande, comme les pays du Maghreb.
Actuellement, sept groupes génétiques de XP (classés de A à G) ont été identifiés, en plus du XP variant, ces groupes dites de complémentarité diffèrent par le gène impliqué, la sévérité et l'âge d'apparition des différents symptômes. Le type XPC connu comme étant le plus fréquent, est caractérisé par les signes cutanés et oculaires les plus sévères qui apparaissent au cours de la petite enfance, les patients ne développent aucun trouble neurologique.

Matériels et méthodes

L'analyse moléculaire réalisée chez 11 patients XPC, a ciblé en premier lieu la recherche de la mutation 1643-1644delTG localisée au niveau de l'exon 9 du gène *XPC*, pour laquelle l'effet fondateur a été décrit dans la région du Nord Afrique.

Résultats

L'étude préliminaire réalisée, a montré que 72,74% des patients XPC sont porteurs de cette mutation. Depuis, on a pu élargir la population d'étude on recrutant des nouveau cas.

Conclusion

La recherche d'autres mutations sur les gènes XP permettra de faciliter le diagnostic et va aider les cliniciens à offrir aux patients et à leurs familles un conseil génétique adéquat.

ABBASSI MERIAME absract XP.docx

P595 : Séquençage exome entier en deuxième intention dans un contexte clinique de suspicion de myopathie héréditaire à inclusions GNE-négative : récapitulatif de la cohorte française.

Auteurs :

Mathieu Cerino (1, 2), Svetlana Gorokhova (2), Pascal Laforêt (3), Rabah Ben Yaou (3), Emmanuelle Salort-Campana (4), Jean Pouget (4), Shahram Attarian (4), Bruno Eymard (3), Jean-François Deleuze (5), Anne Boland (5), Anthony Béhin (6), Tanya Stojkovic (3), Gisèle Bonne (3), Nicolas Lévy (1, 2), Marc Bartoli (2), Martin Krahn (1, 2)

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. Centre de Référence Maladies Neuromusculaires Paris-Est, Institut de Myologie,, APHP, G.H. Pitié Salpêtrière, Paris, France
4. Service de Neurologie et maladies neuromusculaires, AP-HM, Hôpital de la Timone, Marseille, France
5. Centre National de Génotypage,, Institut de Génomique, CEA, Evry, France
6. Institut de Myologie, AP-HP, Groupe Hospitalier La Pitié Salpêtrière, Paris, France

Mots clefs : Séquençage à haut débit ; Myopathie héréditaire à inclusions ; GNE ; Exome ; Tests fonctionnels

Résumé :

La transition technologique des analyses ciblées par séquençage Sanger vers les analyses par séquençage à haut débit dans le domaine des myopathies a permis ces dernières années le développement de stratégies diagnostiques adaptées à ces pathologies hétérogènes. Parmi celles-ci, les myopathies héréditaires à inclusions (hIBM) constituent un groupe particulièrement difficile à appréhender de part l'importante hétérogénéité clinique et génétique impliquant notamment les gènes *DES, VCP, MYH2* ou encore *GNE*. Dans le cadre de la Filière de Soins des Maladies Rares Neuromusculaires FILNEMUS, un travail d'homogénéisation des analyses par NGS en première intention a récemment été finalisé. Néanmoins, les files actives de patients actuelles comportent encore en grande partie des situations pour lesquelles un ou plusieurs gènes avaient été analysés par approche classique en Sanger, mais sans diagnostic génétique précis établi, justifiant ainsi la réalisation d'analyses par NGS en deuxième intention.
Nous rapportons notre expérience au sein du Département de Génétique Médicale en tant que laboratoire national de références pour la forme la plus fréquente d'hIBM, les myopathies héréditaires à inclusions autosomiques récessives causées par des mutations du gène *GNE* (IBM2). Au cours des dernières années, parmi les 179 patients inclus pour une analyse ciblée par séquençage Sanger du gène *GNE*, un diagnostic moléculaire n'a pu être établi que pour seulement 20% des patients. Nous avons donc sélectionné 20 cas index parmi les patients sans confirmation diagnostique génétique par l'approche initiale ciblant le gène *GNE* pour évaluer les performances d'une approche par séquençage exome entier en deuxième intention. Ceci nous a permis d'établir un diagnostic de certitude dans 35% des cas (7 patients) permettant d'envisager par extrapolation un diagnostic de première intention par cette approche NGS d'environ 50% des cas. De plus, cette approche de séquençage a couvert un large spectre diagnostique, comprenant les gènes impliqués dans les différentes formes d'hIBM (avec l'identification de variants délétères dans les gènes *VCP*, *MYH2* et *DES*), ainsi que des gènes majeurs à considérer pour le diagnostic différentiel, actuellement peu étudiés en routine comme par exemple les gènes *FLNC* et *TTN.* L'analyse large en deuxième intention a par ailleurs démontré son utilité pour établir un diagnostic moléculaire pour des situations cliniques peu spécifiques ou atypiques, parfois des années après le diagnostic clinique initial, avec notamment la première caractérisation clinique avec présentation distale de myopathie à polyglucosans associée au gène *GYG1.* Notre expérience souligne l'importance d'une systématisation des analyses NGS de première intention pour les myopathies héréditaires à inclusions, ainsi que l'intérêt d'analyses larges, en particulier par séquençage exome entier, en deuxième intention.

P596 : Maladie de Wilson : Résultat de la première enquête génétique menée chez une famille algérienne

Auteurs :

SIHAM HALLAL (1), Lyès Yargui (1, 2)

1. Laboratoire central de Biochimie, CHU Mustapha-Alger-Algérie, Alger, Algérie
2. chu mustapha, chu mustapha, Alger, Algérie

Mots clefs : wilson, mutation, atp7b, génétique

Résumé :

La maladie de Wilson est une maladie génétique transmise selon un mode autosomale récessif, elle est due à une accumulation de cuivre dans l'organisme, essentiellement dans le foie et le système nerveux central.
L'évolution de la maladie de Wilson, non reconnue à temps est sévère et spontanément mortelle, dans un tableau d'insuffisance hépatocellulaire sévère.
Cette pathologie est due à une anomalie de transporteur de cuivre, codé par le gène l'*ATP7B*, situé sur le chromosome 13, et comprenant 21 exons.
Le diagnostic biologique de cette affection est biochimique, en explorant le métabolisme du cuivre au niveau sanguin et urinaire (Céruloplasmine, Cuprémie, Cuprurie), et plus rarement par détermination du cuivre intra-hépatique.
Un diagnostic moléculaire est secondairement proposé aux familles par étude du gène ATP7B.
La famille C.K issue d'un mariage consanguin de premier degré, composée de deux garçons et trois filles, se présente au laboratoire pour suspicion de maladie de Wilson chez un garçon, l'anamnèse révèle le décès de la maman dans un tableau d'insuffisance hépato-cellulaire. Le bilan cuprique confirme la maladie de wilson. Le malade décède quelques mois suivant le diagnostic. Une étude génétique complète est réalisée nous permettant d'identifier avec exactitude le statut de chaque membre de la famille. Cette enquête a révélé que le second frère ainsi que la sœur la plus âgée portaient la mutation à l'état homozygote, ce qui a permis d'instaurer le traitement alors qu'ils étaient asymptomatiques. Les deux autres filles étaient hétérozygotes.
L'enquête a était élargi, en étudiant la branche paternelle, ce qui a permis d'identifier 2 cousins germains porteurs de l'anomalie moléculaire.
Cette étude préliminaire en Algérie nous a permis de proposer un conseil génétique systématique à l'ensemble des familles de patients wilsons, représentant le moyen unique permettant de différencier entre un patient asymptomatique et un hétérozygote.

Wilson.docx

P597 : Diagnostic des Amyotrophies spinales : Bilan de 7 années de pratique

Auteurs :

SIHAM HALLAL (1), Lyès Yargui (1, 2)

1. Laboratoire central de Biochimie, CHU Mustapha-Alger-Algérie, Alger, Algérie
2. chu mustapha, chu mustapha, Alger, Algérie

Mots clefs : Amyotrophie spinale infantile, SMA, SMN1, SMN2, diagnostic génétique

Résumé :

Les amyotrophies spinales sont des maladies neuromusculaires autosomiques récessives, caractérisées par une dégénérescence des motoneurones associée à une paralysie et à une atrophie musculaire.
Selon l'âge du début et l'évolution de la maladie, on distingue 3 types d'amyotrophie spinale infantile: la forme sévère ou type 1 (maladie de Werdnig-Hoffman), la forme intermédiaire ou type II et la forme la moins sévère ou type III (maladie de Kugelberg-welander).
Le diagnostic de certitude de cette affection repose sur des techniques de biologie moléculaire. En effet, les amyotrophies spinales infantiles résultent, dans plus de 95% des cas, d'une délétion homozygote de l'exon 7 du gène *SMN1* localisé en 5q13.
La mise en évidence de cette délétion est réalisée par Amplification-Digestion enzymatique, en créant un site artificiel de restriction pour l'enzyme Dra I (ACRS : **artificial created restriction site),** Cette technique validée dans notre laboratoire depuis plusieurs années nous permet de prendre en charge les différentes demandes émanant du territoire national (neurologues, pédiatres).
La réalisation de ce travail sur une période de 7 années nous a permis de mettre en évidence plus de 60 cas positifs sur un total de 115 par ans, avec une prédominance de la maladie dans sa forme la plus sévère.

Ce chiffre démontre la fréquence de cette maladie dans notre population, et nous oblige à compléter notre démarche diagnostique par la réalisation du nombre de copie du gène *SMN2*, l'unique argument pronostic de la pathologie.

Abstract sma.docx

P598 : Microdélétion Interstitielle de Novo en 20q13.13 associée au Syndrome de Helsmoortel-van der Aa

Auteurs :

Minh-Tuan HUYNH (1), Elise Boudry-Labis (1), Alfred Massard (2), Bénédicte Duban-Bedu (3), Catherine Vincent-Delorme (4)

1. Institut de Génétique Médicale et Université de Lille 2, Hôpital Jeanne de Flandre, CHRU de Lille, Lille, France
2. Service de Pédiatrie, Centre Hospitalier de Cambrai, Cambrai, France, Cambrai, France
3. Centre de Cytogénétique, Hôpital Saint Vincent de Paul, Lille, France, Hôpital Saint Vincent de Paul, Lille, France, Lille, France
4. Service de Génétique Clinique Guy Fontaine et Université de Lille 2, Hôpital Jeanne de Flandre, CHRU de Lille, Lille, France

Mots clefs : Helsmoortel-van der Aa syndrome, ADNP haploinsuffisance, délétion 20q13.13, mutation de perte de fonction

Résumé :

Le syndrome d'Helsmoortel-van der Aa (syndrome de SWI/SNF autism-related ou d'*ADNP*) est une maladie monogénique de transmission autosomique dominante causée par des mutations *de novo* du gène *ADNP*. Le tableau clinique des patients se caractérise par des troubles autistiques syndromiques associés à une déficience intellectuelle légère à sévère et à une dysmorphie faciale caractéristique. Ce tableau est lié à des mutations ponctuelles de gain de fonction localisées dans le dernier exon du gène *ADNP* et aucune délétion n'a été rapportée à ce jour. Nous présentons ici le premier cas d'un enfant âgé de trois ans et dix mois adressé pour un tableau clinique évoquant un syndrome d'Helsmoortel-van der Aa associant une déficience intellectuelle, des traits autistiques, une dysmorphie faciale, une hyperlaxité, des troubles de l'humeur et du comportement et une constipation chronique sévère. Une puce CGH-array 60K a identifié une délétion interstitielle d'une taille minimale de 63 kb en 20q13.13 emportant les deux gènes *ADNP* et *DPM1*. Ce résultat indique que l'haploinsuffisance du gène *ADNP* est associée au syndrome d'Helsmoortel-van der Aa et confirme l'importance des techniques d'analyse chromosomique sur puces d'ADN en routine diagnostique chez des sujets atteints de déficience intellectuelle inexpliquée et/ou d'autisme.

Dr. Minh-Tuan HUYNH - Microdélétion interstitielle en 20q13.docx

P600 : Les mutations bi-alléliques du gène KLHL7 sont responsables d'un syndrome Bohring-Opitz-like

Auteurs :

Ange-Line Bruel (1, 2), Stefania Bigoni (3), Joanna Kennedy (4), Margo Whiteford (5), Chris Buxton (6), Giulia Parmeggiani (3), Matt Wherlock (6), Geoff Woodward (6), Mark Greenslade (6), Maggie Williams (6), Judith St-Onge (1), Alessandra Ferlini (7), Gianpaolo Garani (7), Elisa Ballardini (7), Christian Gilissen (8), Bregje van Bon (9), Rocio Acuna-Hildago (9), Axel Bohring (10), Jean-Baptiste Rivière (1), Han G Brunner (8), Alexander Hoischen (8), Ruth Newbury-Ecob (11), Laurence Faivre (1, 12), Christel Thauvin-Robinet (1, 12), Julien Thevenon (1, 12)

1. FHU-TRANSLAD,INSERM UMR1231, Équipe GAD, Université Bourgogne-Franche Comté/CHU Dijon, Dijon, France
2. Unité Fonctionnelle Innovation en Diagnostic génomique des maladies rares, FHU-TRANSLAD, CHU Dijon Bourgogne, Dijon, France
3. UOL of Medical Genetics, Department of Reproduction and Growth and Department of Medical Science, University-Hospital St Anna, Ferrara, Italie
4. Clinical Genetics Department, University of Bristol, University Hospitals NHS foundation trust, St Michael's Hospital, Bristol, Royaume Uni
5. Department of Clinical Genetics, Queen Elizabeth University Hospital, Glasgow, Royaume Uni
6. Bristol Genetics Laboratory, Southmead Hospital, Bristol, Royaume Uni
7. Neonatal Intensive Care Unit, Department of Reproduction and Growth , University-Hospital St Anna, Ferrara, Italie
8. Department of Human Genetics, Radboud university medical center, Nijmegen, Pays-Bas
9. Department of Human Genetics, Radboud University Medical Center, Nijmegen, Pays-Bas
10. Institut für Humangenetik, Westfälische Wilhelms-Universität, Münster, Allemagne
11. UOL of Medical Genetics, Department of Reproduction and Growth and Department of Medical Science, University of Bristol, University Hospitals NHS foundation trust, St Michael's Hospital, Bristol, Royaume Uni
12. Centre de Référence Anomalies du Développement et syndromes malformatifs, centre de génétique, CHU Dijon, Dijon, France

Mots clefs : KLHL7, Syndrome Bohring-Opitz, syndrome Crisponi

Résumé :

Des mutations bi-alléliques du gène *KLHL7* ont récemment été identifiées dans cinq familles avec un diagnostic de syndrome Crisponi. Le syndrome Crisponi est caractérisé par des contractions musculaires sévères, une hyperthermie, des difficultés respiratoires ainsi que des anomalies faciales et des extrémités.
Dans cette étude, nous rapportons six nouveaux cas issus de quatre familles distinctes, suspects d'un syndrome de Bohring-Opitz, classiquement causé par des mutations hétérozygotes du gène *ASXL1*. Ils présentent une microcéphalie (6/6), une dysmorphie faciale incluant notamment une exophtalmie (6/6), un hypertélorisme (6/6) et un naevus flammeus (5/6), ainsi que des malformations cérébrales (6/6) et des déformations des coudes en flexion et des poignets associées à une camptodactylie (6/6). Les premiers mois de vie sont marqués par des difficultés alimentaires, une épilepsie, et des infections pulmonaires sévères et récurrentes. Chez ces six cas, le séquençage haut débit d'exome n'a pas identifié de variation du gène *ASXL1* mais des variations pathogènes récessives du gène *KLHL7*. Ce gène code pour une protéine de la superfamille BTB-Kelch, impliquée dans le cycle cellulaire et la dégradation de protéines par ubiquitylation via le protéasome. De plus, KLHL7 semble être impliqué dans la régulation de l'expression des gènes par le biais de son interaction avec le complexe Polycomb PRC1 (Polycomb Repressive Complex 1). Ce complexe interagit avec la protéine ASXL1 capable de reconnaître des marques épigénétiques spécifiques et d'induire l'ubiquitylation de la lysine 119 de l'histone H2A, verrouillant la chromatine et réprimant la transcription loco-régionale.
En conclusion, cette étude permet d'étendre le spectre clinique des variations récessives du gène *KLHL7*, initialement connu comme responsable du syndrome de Crisponi, à un nouveau syndrome dont le phénotype décrit, chevauche avec le syndrome de Bohring-Opitz et pourrait s'avérer secondaire à des anomalies de la régulation chromatinienne.

2018_Assise de Génétique - Ange-Line - KLHL7.docx

P601 : La sous expression constitutive de BCL2 aggrave le phénotype d'une polykystose rénale induite par une mutation dans le gène PKD1

Auteurs :

laurence duplomb (1), Nathalie Droin (2), Olivier Bouchot (3), christel thauvin-robinet (1), Ange-Line Bruel (4), Julien Thevenon (4), Patrick Callier (4), Guillaume Meurice (5), Noémie Pata-Merci (5), Romaric Loffroy (6), David Vandroux (7), Romain Da Costa (4), virginie carmignac (1), Eric Solary (8), laurence faivre (1)

1. GAD INSERM1231, CHU, Université de Bourgogne, dijon, France
2. INSERM U1170, institut Gustave Roussy, villejuif, France
3. Chirurgie cardiovasculaire, CHU Dijon, Dijon, France
4. GAD INSERM1231, CHU, Université de Bourgogne, Dijon, France
5. UMS AMMICA (UMS 3655 CNRS / US 23 INSERM), institut Gustave Roussy, Villejuif, France
6. radiologie, CHU Dijon, Dijon, France
7. NVH Medicinal Biotechnology, Medicinal Biotechnology, Dijon, France
8. INSERM U1170, institut Gustave Roussy, Université Paris-Sud, Faculté de Médecine, Le Kremlin-Bicêtre, Villejuif, France

Mots clefs : BCL2, souris KO Bcl2-/- , polykystose rénale, PKD1

Résumé :

La fonction principale de la protéine BCL2 est de prévenir la mort cellulaire par apoptose. Les souris KO pour *Bcl2* présentent un retard de croissance, une polykysotse rénale (PKR) sévère, des cheveux gris, une lymphopénie et meurent peu de temps après la naissance. Un homme de 40 ans nous a été adressé pour dissections abdominale et thoracique associées à un anévrisme aortique, une PKR, une lymphocytopénie avec un épisode de lymphome T dans l'enfance, des difficultés d'apprentissage et des cheveux blancs depuis l'âge de 20 ans, phénotype très proche de celui de la souris *Bcl2*$^{-/-}$. Une mutation dans le gène *PKD1* a été détectée, héritée du père, et est également présente chez la sœur, tous deux présentent une PKR classique, mais qui ne peut expliquer la totalité du phénotype du patient. La comparaison des niveaux d'expression de BCL2 (ARNm et protéine) entre les parents, la sœur et le patient montre une diminution très importante de BCL2 dans les lymphocytes T du patient ainsi que dans les cellules vasculaires de sa paroi aortique. L'apoptose spontanée des lymphocytes T du patient est augmentée et peut être prévenue par stimulation avec un anticorps anti-CD3. Le séquençage direct des exons de *BCL2*, de son promoteur, de la région 3'UTR ainsi que le séquençage de son ARNm n'a pas permis d'identifier un variant pathogénique. La CGH-array était aussi normale. Enfin le séquençage de l'exome du patient, de ses parents et de sa sœur n'a pas non plus permis de détecter de variants significatifs dans des gènes codant pour des protéines interagissant avec BCL2. L'étude des miRNA a montré une augmentation d'expression du miR-181a, régulateur connu de l'expression de *BCL2*. Tous ces résultats suggèrent que la diminution d'expression de BCL2, dépendante de l'augmentation du miR-181a peut être le facteur clé aggravant le phénotype engendré par une mutation de *PKD1*.

P602 : Extension du spectre phénotypique d'ALDH18A1 vers une forme fœtale sévère avec cutis laxa et agénésie du corps calleux

Auteurs :

Mathilde LEFEBVRE (1, 2), Anne-Marie BEAUFRERE (3), Christine Francannet (4), Helene Laurichesse (5), Poe Charlotte (1), jouan thibaud (1), Baptiste Troude (6), Pierre Dechelotte (3), Pierre Vabres (1), Anne-Laure Mosca-Boidron (7), yannis duffourd (1), Laurence FAIVRE (1, 2), Julien THEVENON (1, 8), Christel THAUVIN-ROBINET (1, 2)

1. Inserm – UB UMR 1231 GAD « Génétique des Anomalies du Développement », Dijon, France , Université de Bourgogne Franche Comté, dijon, France
2. Centre de Génétique et Centre de Référence Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs de l'Est, FHU-TRANSLAD, CHU de Dijon, dijon, France
3. Service d'Anatomie et Cytologie Pathologique, CHU Clermont Ferrand, Clermont-Ferrand, France
4. Centre de génétique, CU Clermont-Ferrand, Hopital d'Estaing, Clermont Ferrand, France
5. Service de gynecologie obstétrique, CHU Clermont Ferrand, Clermont-Ferrand, France
6. Centre de génétique, CHU Clermont Ferrand, Clermont-Ferrand, France
7. service de cytogénétique, CHU de Dijon, dijon, France
8. Service de Génétique et procréation, CHU Grenoble-Alpes, Grenoble, France

Mots clefs : agénésie du corps calleux, cutis laxa, ALDH18A1, foetus

Résumé :

ALDH18A1 code pour la delta-1-pyrroline-5-carboxylate synthetase (P5CS) qui catalyse les premières étapes de la synthèse de la proline, de l'ornithine et de l'arginine. Cette protéine est composée de 2 domaines, un domaine glutamate 5-kinase (G5K) responsable de la synthèse du L-glutamate-5-phosphate à partir du L-glutamate et un domaine glutamate-5-phosphate reductase (G5PR) responsable de la synthèse du L-glutamate-5-semialdehyde à partir du L-glutamate-5-phospate. Des variations du gène *ALDH18A1* ont été rapportées dans des paraplégies spastiques (avec une forme autosomique dominante et une forme autosomique récessive) et dans des cutis laxa (autosomiques dominants et autosomiques récessifs).
Par séquençage haut débit d'exome dans une cohorte de fœtus polymalformés sans orientation étiologique (FOETEX), nous avons identifié deux variations hétérozygotes composites du gène *ALDH18A1* (p.Arg425Cys et p.Lys59Asnfs*9) chez un fœtus présentant une agénésie du corps calleux (ACC) associée à un cutis laxa, un retard de croissance intra-utérin, une dysmorphie faciale, une hypoplasie cérébelleuse et des anomalies osseuses. Ces variations affectent conjointement les deux domaines protéiques G5K et G5PR. Des variations pathogènes du gène *ALDH18A1* ont été rapportées dans différentes pathologies incluant en particulier le cutis laxa autosomique récessif de type IIIA caractérisé par un cutis laxa, une hypotrophie, une épilepsie ou un retard psychomoteur et des malformations congénitales multiples (cardiopathie, pyelectasie). A ce jour, 12 variations pathogènes du gène *ALDH18A1* ont été associées à ce phénotype, principalement des faux-sens affectant uniquement l'un des 2 domaines de la protéine. Nos données élargissent le spectre clinique de cette entité à des formes prénatales particulièrement sévères avec ACC, hypoplasie cérébelleuse, et retard de giration, associés pour la première fois à des variations affectant les deux domaines protéiques.

P603 : Quand le séquençage d'exome clinique solo échoue: Valeur ajoutée du séquençage des parents pour une réinterprétation en trio, vers l'identification de nouveaux gènes responsables d'anomalies du développement

Auteurs :

Frédéric Tran (1, 2), Sebastien Moutton (1, 2), Antonio Vitobello (2, 3), Ange-Line Bruel (2, 3), Nolwenn Jean (1), Daphne Lehalle (1), Julien Thevenon (1), Paul Kuentz (1), Genevieve Baujat (4), Sophie Nambot (1, 2), Charlotte Poe (1), Thibaud Jouan (2), Martin Chevarin (1), Mathilde Lefevbre (1), Mirna Assoum (1), Virginie Carmignac (1), Pierre Varbres (1), Arthur Sorlin (5), Alice Masurel (1), Emilie Tisserand (2), Nada Houcinat (1), Anne-Laure Mosca-Boidron (6), Patrick Callier (6), Yannis Duffourd (1), Christophe Philippe (6, 3), Laurence Faivre (1, 2), Christel Thauvin (1, 2)

1. Service de Génétique des Anomalies du Développement, CHU Dijon, Dijon, France
2. INSERM UMR1231, CHU Dijon, Dijon, France
3. UF Innovation en diagnostic génomique des maladies rares, Laboratoire de Cytogénétique et Génétique Moléculaire, CHU Dijon, Dijon, France
4. Service de génétique médicale, hôpital Necker-Enfants Malades, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
5. Service de génétique médicale , CHU Nancy, Nancy, France
6. Laboratoire de Cytogénétique et Génétique Moléculaire, CHU Dijon, Dijon, France

Mots clefs : séquençage d'exome clinique, taux diagnostic supplémentaire, anomalies du développement.

Résumé :

La déficience intellectuelle (DI) et les anomalies du développement (AD) sont des pathologies fréquentes affectant environ 1-3% de la population. Les causes sont multiples, dont 80% sont d'origine génétique, incluant principalement des anomalies chromosomiques et des variations nucléotidiques. En France, le diagnostic repose sur l'expertise clinique, l'utilisation de l'analyse chromosomique sur puce à ADN (ACPA), la recherche du syndrome X-fragile ± l'étude de gènes/panels ciblés orientés en fonction des données cliniques et/ou généalogiques. Si l'expertise clinique ne permet pas de cibler l'étude d'un gène en particulier, il est estimé que ces différents outils aboutissent actuellement à un diagnostic étiologique chez seulement 20% des patients. Grâce aux techniques de séquençage haut débit, la génétique connaît un véritable bouleversement technologique. Le séquençage d'exome (WES) solo ciblée sur les gènes impliqués en pathologie humaine (OMIM) a été rapporté par plusieurs équipes internationales comme efficace pour identifier de nombreuses anomalies moléculaires causales de DI/AD.
Depuis 2013, notre équipe a implanté l'analyse clinique (restreinte aux gènes OMIM) de WES-solo au service des patients atteints de maladies rares avec DI et/ou AD. A ce jour, chez plus de 700 patients avec ACPA normale, notre taux diagnostic global est de 27%, s'élevant à 31% avec une analyse recherche complémentaire étendue à l'ensemble des gènes.
Chez 46 patients sélectionnés sur la sévérité de leur présentation clinique mais avec un WES-solo négatif, nous avons secondairement réalisé le WES des parents pour réanalyse des données de WES du cas index en trio. Chez 10/46 patients (21.7%), cette réanalyse a permis d'identifier 8 nouveaux gènes candidats conduisant à initier ou intégrer un projet collaboratif de description clinico-biologique et des variations causales dans 2 gènes OMIM, le premier récemment référencé dans l'intervalle entre l'analyse solo et la réanalyse trio (*PPM1D*) et le second avec une forme autosomique récessive non décrite dans OMIM et plus sévère que la forme dominante déjà référencée (*TOR1A*). Parmi ces gènes, 7 comportaient des variations tronquantes (*HNRNPR*, *IRF2BPL*, *KMT5B*, *PPM1D*, *PTBP1*, *SPEN, TOR1A*) et 3 des variations faux-sens hétérozygotes (*KCNMA1*, *RALGAPB, TRAF7*). L'analyse en trio n'a pas trouvé de variation causale dans un gène OMIM, que l'analyse initiale en solo aurait manqué.
En conclusion, l'analyse clinique du WES-solo représente une stratégie intéressante en diagnostic dans des maladies rares génétiquement hétérogènes. La stratégie d'analyse WES-trio en un second temps permet d'accélérer la recherche translationnelle et d'identifier de nouveaux gènes responsables de DI/AD par une sélection rapide des variations candidates en fonction des différents modes d'hérédité. Alors que le séquençage du génome complet devrait augmenter le rendement diagnostique, il reste encore un espace à combler dans l'interprétation du WES.

Abstract_assises_trio.docx

P604 : Le syndrome de Noonan, une cause sous-estimée de surdité de perception. Quelles conséquences pour la prise en charge ?

Auteurs :

Alban Ziegler (1), Natalie Loundon (2), Laurence Jonard (3), Vincent Couloigner (2), Sandrine Marlin (1)

1. Centre de référence des surdités génétiques, Service de Génétique Médicale, Hôpital Necker Enfant Malade, Paris, France
2. Service d'otorhinolaryngologie, Hôpital Necker Enfant Malade, Paris, France
3. Centre de référence des surdités génétiques, Service de Biologie Moléculaire, Hôpital Necker Enfant Malade, Paris, France

Mots clefs : Syndrome de Noonan, Surdité de perception, Surdité progressive

Résumé :

Le syndrome de Noonan est unne pathologie génétique fréquente mais de diagnostic parfois difficile du fait de la variabilité des symtômes et de l'hétérogénité génétique. En raison d'un risque accru d'otites, une surdité de transmission est très fréquemment retrouvé chez les patients atteints de ce syndrome. Cependant, une dizaine de patients ayant une surdité de perception lié à ce syndrome ont été rapportées. Nous décrivons le phénotype de 5 patients ayant un Syndrome de Noonan confirmé moléculairement et une surdité de perception. Le caractère potentiellement progressif de la surdité doit inciter à contrôler régulièrement l'audition de ces patients.

noonan_assisesNantes.doc

P605 : A propos d'un athlète de haut niveau sourd, aveugle et atteint d'un syndrome PHARC. Rôle protecteur du sport ou effet addictif des mutations d'ABHD12 ?

Auteurs :

Alban Ziegler (1), Laurence Jonard (2), Crystel Bonnet (3), Isabelle Audo (3, 4), Sandrine Marlin (1)

1. Centre de référence des surdités génétiques, Service de Génétique Médicale, Hôpital Necker Enfant Malade, Paris, France
2. Centre de référence des surdités génétiques, Service de Biologie Moléculaire, Hôpital Necker Enfant Malade, Paris, France
3. UMRS 1120 INSERM/UPMC, Institut de la Vision, Paris, France
4. INSERM-DHOS CIC1423, CHNO des Quinze-Vingts, DHU Sight Restore, Paris, France

Mots clefs : PHARC, ABHD12, surdité, cécité, addiction, neuroinflammation, neuropathie

Résumé :

Le syndrome PHARC se caractérise par l'association d'une polyneuropathie, une surdité neurosensorielle, une ataxie, une rétinite pigmentaire et une cataracte. Cependant, les patients ne présentent pas toujours l'ensemble de ces symptômes lors du diagnostic. Il s'agit d'une pathologie récessive consécutive à des mutations d'ABHD12. Ce gène code pour ABHD12 une protéine impliqué dans la voie des endocannabinoide qui est centrale dans les mécanismes d'addictions. Par ailleurs, une accumulation de lipides proinflammatoires a été démontré dans le modèle murin de cette pathologie. Cette accumulation est tenue pour responsable d'une grande partie des symptômes.
Nous rapportons ici l'histoire d'un patient atteint de 45 ans présentant une surdité associée à une rétinite pigmentaire et une cataracte bilatérale. Ce patient est par ailleurs un athlète de haut niveau et ne présente ni ataxie ni polyneuropathie. Le séquençage de ABHD12 a permis de mettre en évidence une mutation stop déjà rapportée et pour laquelle les épreuves fonctionnelles ont démontrées une perte d'activité. Le patient de la littérature porteur de cette mutation présentait une ataxie et une polyneuropathie précoce. L'absence d'atteinte neurologique chez notre patient fait évoquer la présence de facteurs environnementaux modificateurs. Un de ces facteurs pourrait être l'activité sportive intense qui contribue à prévenir la neuroinflammation.
De plus, la dérégulation du métabolisme des endocannabinoïdes pourrait être un facteur de risque pour l'addiction au sport.

pharc_assises.doc

P606 : De novo microdélétion 15q24.1 BP4-BP1 et microduplication distale 15q24.2q24.3 chez une patiente présentant retard psychomoteur, épilepsie, surpoids, arythmie ventriculaire et puberté centrale précoce – Corrélation génotype-phénotype

Auteurs :

Minh-Tuan HUYNH (1), Anne-Sophie LAMBERT (2), Lucie TOSCA (3), François PETIT (4), Christophe PHILIPPE (5), Frédéric PARISOT (4), Virginie BENOIT (3), Cécile THOMAS-TEINTURIER (2), Agnès LINGLART (2), Sophie BRISSET (3), Cong-Toai TRAN (6), Gérard TACHDJIAN (3), Aline RECEVEUR (3)

1. Institut de Génétique Médicale et Université de Lille 2, Hôpital Jeanne de Flandre, CHRU de Lille, Lille, France
2. APHP, Service d'Endocrinologie et de Diabétologie Pédiatrique, Hôpitaux Universitaires Paris-Sud, Hôpital Kremlin-Bicêtre, Kremlin Bicêtre, France
3. APHP, Service d'Histologie, Embryologie et Cytogénétique, Hôpitaux Universitaires Paris-Sud, Hôpital Antoine Béclère, Clamart, France
4. APHP, Laboratoire de Génétique Moléculaire, Hôpitaux Universitaires Paris-Sud, Hôpital Antoine Béclère, Clamart, France
5. Laboratoire de Génétique Chromosomique et Moléculaire, Plateau technique de Biologie, CHU de Dijon, DIJON, France
6. Service d'Histologie, Embryologie et Cytogénétique, Université Pham Ngoc Thach , Université Pham Ngoc Thach de Ho Chi Minh Ville, Ho Chi Minh Ville, Viêt Nam

Mots clefs : microdélétion 15q24.1 BP4-BP1, extrasystole ventriculaire, obésité, polymorphisme fonctionnel, microduplication 15q24.2q24.3 distale

Résumé :

Les syndromes microdélétionnel et microduplicationnel 15q24 sont de rares désordres génétiques liés le plus souvent à une recombinaison homologue non allélique médiée par cinq duplications segmentales localisées dans la région 15q24. Une région minimale critique commune d'environ 1.2 Mb comportant sept gènes (*CYP11A1*, *SEMA7A*, *CPLX3*, *ARID3B*, *STRA6*, *SIN3A* et *CSK)* a été définie en 15q24 pour ces syndromes microdélétionnel et microduplicationnel récurrents. Sur le plan phénotypique, le syndrome microdélétionnel 15q24 se caractérise par une microcéphalie, une dysmorphie faciale typique, un retard du développement, des troubles de la croissance, des anomalies digitales, une hyperlaxité articulaire et un hypospadias tandis que le syndrome microduplicationnel réciproque se caractérise par un retard léger du développement et une dysmorphie faciale variable associés à des anomalies squelettiques et génitales. De plus, de rares cas de délétion/duplication atypique dont l'un des points de cassure n'est pas situé dans les duplicons en 15q24 ont été récemment rapportés. Nous présentons ici le cas d'une fille de dix ans présentant un retard léger du développement, une épilepsie, une extrasystolie ventriculaire monomorphe majeure (> 1000 extrasystoles ventriculaires par heure) sur Holter ECG et un bloc de branche gauche, de multiples extrasystoles ventriculaires droites sur ECG, un surpoids (poids et taille actuels : 39.5 kg (75-90ème percentile) et 134 cm (25ème percentile) avec un indice de masse corporelle de 22 kg/m^2) (93ème percentile) et une puberté précoce centrale. L'analyse par CGH-array 180K nous a permis d'identifier une microdélétion interstitielle d'une taille minimale de 1.38 Mb en 15q24.1 BP4-BP1 emportant 13 gènes dont *BBS4*, *NEO1*, *HCN4*, *LOXL1*, *C15orf59* et *NPTN* et une microduplication distale d'une taille de 2.6 Mb en 15q24.2q24.3. Une analyse en FISH nous a permis de montrer que ces deux variations étaient survenues *de novo* chez le cas index et n'ont pas impliqué la région minimale critique de la délétion/duplication 15q24 précédemment rapportée. Des mutations du gène *HCN4* sont responsables de l'arythmie cardiaque incluant Sick-sinus syndrome de type 2 de transmission autosomique dominante et syndrome de Brugada de type 8. Le séquençage des gènes candidats d'épilepsie et d'obésité a montré que le cas index était porteur de deux variations de séquence à risque d'origine paternelle dans le gène *BBS4* (rs7178130) et dans le gène *NPTN* (rs7171755) prédisposant à l'obésité et aux troubles neurodéveloppementaux (déficit intellectuel, maladies psychiatriques). Ce résultat souligne l'importance des études moléculaires exhaustives dans l'établissement des corrélations génotype-phénotype. De même, ce cas souligne la complexité dans l'interprétation des polymorphismes fonctionnels et/ou des variants génétiques pouvant conduire à la variabilité des manifestations cliniques chez des patients porteurs d'aberrations chromosomiques sub-microscopiques.

Assises de génétique 2018.docx

P607 : Vers l'identification des bases moléculaires du syndrome oculoauriculofrontonasal : à partir d'une série de 17 patients

Auteurs :

Daphné Lehalle (1), Umut Altunoglu (2), Ange-Line Bruel (3), Mirna Assoum (3), Yannis Duffourd (3), Alice Masurel (1), Geneviève Baujat (4), Bettina Bessieres (5), Christelle Cabrol (6), Guillaume Captier (7), Patrick Edery (8), Nursel Elçioğlu (9), David Geneviève (10), Alice Goldenberg (11), Sarah Grotto (12), Delphine Héron (13), Sandrine Marlin (14), Audrey Putoux (8), Massimiliano Rossi (15), Pascale Saugier-Veber (16), Stéphane Triau (17), Myriam Vezain (16), Catherine Vincent-Delorme (18), Christel Thauvin (1), Julien Thevenon (1), Pierre Vabres (3), Patrick Callier (1), Hulya Kayserili (2), Laurence Faivre (1)

1. Fédération Hospitalo-Universitaire Médecine Translationnelle et Anomalies du Développement (TRANSLAD), Centre Hospitalier Universitaire Dijon, 21079 Dijon, France, Dijon, France
2. Medical Genetics Department, Istanbul Medical Faculty, Istanbul University, Istanbul, Turquie
3. Equipe GAD, INSERM LNC UMR 1231, Faculté de Médecine, Université de Bourgogne Franche-Comté, Dijon, France
4. Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, Institut Imagine UMR_S1163 Hôpital Necker-Enfants Malades, Service de Génétique Médicale, Paris, France
5. Service d'Histologie-Embryologie-Cytogénétique, Hôpital Necker-Enfants malades, Paris, France
6. Service de Génétique Humaine, CHU Besançon, Besançon, France
7. Service de chirurgie orthopédique et plastique pédiatrique, Hôpital Lapeyronie, CHU Montpellier, Montpellier, France
8. Service de Génétique Médicale, CHU de Lyon HCL - GH Est - Hôpital Femme Mère Enfant, 69677 Bron Cedex, Lyon, France
9. Department of Pediatric Genetics, Marmara University School of Medicine, Istanbul, Turquie
10. Service de Génétique Médicale, CHU de Montpellier, Montpellier, France
11. Service de Génétique Médicale, CHU de Rouen - Hôpital Charles Nicolle 76031 Rouen, Rouen, France
12. Service de Génétique, Rouen University Hospital, Normandy Centre for Genomic and Personalized Medicine, Rouen, France
13. Département de Génétique, AP-HP, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Centre de Référence , Paris, France
14. Service de Génétique Médicale, Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, Institut IMAGINE UMR_S1163, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, Paris, France
15. Service de Génétique, CHU Lyon, Centre de Recherche en Neurosciences de Lyon, INSERM U1028 CNRS UMR 5292, UCB Lyon 1, Lyon, France
16. Department of Pediatric Genetics, Rouen University Hospital, Normandy Centre for Genomic and Personalized Medicine, Rouen, France
17. Service de Foetopathologie, CHU Angers, Angers, France
18. Department of Clinical Genetics, CHRU Lille, Lille, France

Mots clefs : syndrome oculoauriculofrontonasal, dysplasie frontonasale, séquençage haut-débit d'exome, séquençage haut-débit de génome

Résumé :

Le syndrome oculoauriculofrontonasal (OAFN) est caractérisé par l'association d'une dysplasie frontonasale (hypertélorisme, fente faciale, anomalies du nez, cranium bifidum), et de signes appartenant au spectre du syndrome oculoauriculovertébral (OAVS), comme les fibrochondromes préauriculaires, les dermoïdes épibulbaires, les colobomes des paupières, les anomalies costo-vertébrales, ainsi que l'asymétrie faciale et mandibulaire. L'étiologie est inconnue à l'heure actuelle, tous les patients décrits sont de survenue sporadique. Ce travail a visé à l'identification de bases moléculaires du syndrome OAFN. Parmi deux cohortes de patients avec dysplasie frontonasale, l'une française de 78 patients et l'autre turque de 50 patients, un phénotypage fin a permis d'identifier 17 individus avec syndrome OAFN. Nous décrivons le spectre clinique associé à ce syndrome, incluant de nouveaux signes non encore rapportés dans la littérature (micro/anophtalmie, agénésie thyroïdienne, polymicrogyrie, hypoplasie des bulbes olfactifs et fente mandibulaire), et soulignons la fréquence importante dans notre série de patients avec polypes nasals (59%), soulignant le syndrome de Pai comme diagnostic différentiel fréquent. Nous rapportons les résultats négatifs du séquençage des gènes *ALX1*, *ALX3*, *ALX4* chez 4 patients, et d'une stratégie de séquençage haut-débit d'exome et de génome, réalisée sur ADN extrait de sang de respectivement 3 et un individus. D'après les données de la littérature et de cette série, différentes hypothèses étiologiques peuvent être soulevées pour expliquer le syndrome OAFN : mutation en mosaïque, anomalie épigénétique, oligogénisme, ou cause non génétique. En conclusion, cette série permet une meilleure caractérisation clinique de ce syndrome rare, et ouvre la voie vers l'identification d'une étiologie, qui permettra un diagnostic précoce, une meilleure prise en charge des patients et un conseil génétique adapté.

P608 : Déficit en cholestérol et altération de la voie Sonic Hedgehog dans la trisomie 18

Auteurs :

Kara Ranguin (1), Marie Nowoczyn (2), Marie-Hélène Read (2), Céline Ballandonne (1), Claire Soucy (2), Thomas Branly (1), Bastien Bourdon (1), Nicolas Gruchy (3)

1. EA 7450 Biotargen, Normandie Université, Caen, France
2. Biochimie, CHU Caen, Caen, France
3. service de génétique, CHU Caen, Caen, France

Mots clefs : Trisomie 18, cholestérol, Sonic Hedgehog, GLI

Résumé :

La trisomie 18 (T18) est un syndrome polymalformatif dans lequel un déficit en cholestérol est observé (Lam et *al.*, 2006).
Le cholestérol joue un rôle essentiel dans la voie de signalisation Sonic Hedgehog (Shh), assurant une maturation de la protéine SHH afin de lui conférer une activité maximale. Parmi les malformations observées dans la T18, un certain nombre surviennent au niveau de tissus où SHH joue un rôle primordial, c'est à dire au niveau de la face ou des membres.
Notre étude a pour but de doser le cholestérol et quatre de ses précurseurs (7 déhydrocholestérol, desmostérol, lathostérol et lanostérol) dans le milieu de culture d'amniocytes T18 et d'amniocytes témoins par chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse.
Nous avons également quantifié l'expression de gènes cibles de la voie Shh (*BMP2, BMP4, TGFβ1, COL1A1 et COL1A2)* et des facteurs de transcription GLI essentiels de cette voie par RT-PCR quantitative en utilisant des ARN interférents.
Nous avons montré que le taux de cholestérol et des précurseurs dosé dans le milieu de culture d'amniocytes est significativement plus bas pour les amniocytes de T18 que pour les témoins. Ceci laisse supposer que le blocage enzymatique, s'il existe, se situerait en amont. Et enfin, le blocage par siARN a montré une diminution significative de *BMP2* et *COL1A1* lorsque *GLI1* et *3* sont inhibés. Ceci confirme le lien entre les *GLI* et les gènes cibles de la morphogenèse osseuse.

P609 : Des mutations du gene ELMO2 a l'origine du syndrome de Ramon

Auteurs :

Cybel MEHAWEJ (1, 2), Alexander HOISCHEN (3, 4), Roula A FARAH (5), Isabelle MAREY (6), Mikael DAVID (7), Samantha STORA (7), Katherine LACHLAN (8, 9), Han G. BRUNNER (3, 10), André MEGARBANE (6)

1. Unité de Génétique Médicale, Faculté de Médecine - Université Saint Joseph, Beirut, Liban
2. Division of Immunology, Boston Children's Hospital and Department of Pediatrics, Harvard Medical School, BOSTON, Etats-Unis
3. Department of Human Genetics, Radboud University Medical Center, NIJMEGEN, Pays-Bas
4. Department of Internal Medicine and Radboud Center for Infectious Diseases (RCI), Radboud University Medical Center, NIJMEGEN, Pays-Bas
5. Department of Pediatrics, Division of Hematology/Oncology, Saint George Hospital University Medical Center, Beirut, Liban
6. Recherche, INSTITUT JEROME LEJEUNE, PARIS, France
7. CRB BIOJEL, INSTITUT JEROME LEJEUNE, PARIS, France
8. Human Genetics & Genomic Medicine, University of Southampton, Southampton General Hospital, SOUTHAMPTON, Royaume Uni
9. Wessex Clinical Genetics Service, University Hospital Southampton NHS Foundation Trust, Princess Anne Hospital, SOUTHAMPTON, Royaume Uni
10. Department of Clinical Genetics and GROW School for Oncology and Developmental Biology, Maastricht UMC, MAASTRICHT, Pays-Bas

Mots clefs : Dysmorphologie, Gene, Exome, Ramon syndrome

Résumé :

Nous rapportons le cas d'une fille d'origine libanaise issue de parents cousins au 1er degré, présentant une déficience intellectuelle, des convulsions, des gingivorragies à répétition, des mâchoires inférieures et supérieures volumineuses, une hypertrophie gingivale, un palais ogival et étroit, des malpositions dentaires, un hirsutisme du dos, un abdomen large et proéminent, et une hernie ombilicale. Des kystes de la mandibule, une dysplasie fibreuse des os, et des végétations adénoïdes hypertrophiées provoquant un rétrécissement d'environ 60% des voies aériennes nasopharyngées, ont été notées lors de l'examen radiographique. Son frère a présenté les mêmes caractéristiques cliniques en plus d'une petite taille, d'un ostium secundum et d'une déficience intellectuelle plus prononcée. Il est décédé à l'âge de 8 ans suite à une infection pulmonaire sévère et des épisodes de saignement répétés. Un diagnostic clinique du syndrome de Ramon a été posé.
Des études exhaustives sur le séquençage d'exome effectuées sur la famille ont révélé la présence d'une nouvelle mutation à l'état homozygote p.I606S dans le gène *ELMO2* chez les patients. Les mutations dans *ELMO2* ont récemment été décrites dans un syndrome appelé VMOS et caractérisées cliniquement par des malformations vasculaires intra-osseuses primaires ou des hémangiomes intra-osseux. Le fait que les deux syndromes, Ramon et VMOS, fassent partie de la même entité clinique est discuté.

P610 : Intérêt de l'analyse complémentaire en recherche des données de séquençage haut débit d'exomes négatifs en diagnostic pour les anomalies du développement et/ou déficience intellectuelle

Auteurs :

Ange-Line Bruel (1, 2), Sophie Nambot (1, 3), Virginie Quéré (1, 4), Mirna Assoum (1), Antonio Vittobello (1, 4), Sébastien Moutton (1, 5), Nada Houcinat (1, 3), Daphné Lehalle (6, 3), Nolwenn Jean-Marçais (1, 3), Mathilde Lefebvre (1, 4), Group Orphanomix (7), Martin Chevarin (1, 4), Thibaud Jouan (1, 4), Charlotte Poë (1, 4), Anne-Laure Mosca-Boidron (1, 4), Patrick Callier (1, 4), Emilie Tisserant (1), Julien Thevenon (1, 3), Christophe Philippe (1, 4), Frédéric Tran Mau-Them (1, 4), Yannis Duffourd (8, 4), Laurence Faivre (1, 3), Christel Thauvin-Robinet (1, 3)

1. FHU-TRANSLAD,INSERM UMR1231, Équipe GAD, Université Bourgogne-Franche Comté/CHU Dijon, Dijon, France
2. Unité Fonctionnelle Innovation en Diagnostic génomique des maladies rares, FHU-TRANSLAD, CHU Dijon Bourgogne, Dijon, France
3. Centre de Référence Anomalies du Développement et syndromes malformatifs, centre de génétique, CHU Dijon, Dijon, France
4. Unité Fonctionnelle Innovation en Diagnostic génomique des maladies rares, CHU Dijon, Dijon, France
5. Centre de Référence Anomalies du Développement et syndromes malformatifs, centre de génétique, Université Bourgogne-Franche Comté/CHU Dijon, Dijon, France
6. FHU-TRANSLAD,INSERM UMR1231, Équipe GAD, CHU Dijon, Dijon, France
7. Orphanomix, Equipe GAD, Dijon, France
8. FHU-TRANSLAD, Équipe EA42271 GAD, Université Bourgogne-Franche Comté/CHU Dijon, Dijon, France

Mots clefs : Exome, Déficience intellectuelle, Anomalies du développement

Résumé :

Le séquençage haut-débit d'exome (WES) a largement prouvé son efficacité dans l'identification des bases moléculaires des maladies rares très hétérogènes, telles que les anomalies du développement (AD) et la déficience intellectuelle (DI). Chez les patients en errance diagnostique (sans diagnostic clinique évident et ayant déjà bénéficié de l'ACPA et/ou d'analyses de gènes ciblés), le WES présente un taux diagnostique d'environ 30% lorsque l'interprétation des variations est restreinte aux gènes connus comme impliqués en pathologie humaine, selon les critères de recommandations déterminés par l'American College of Medical Genetics (ACMG). Au terme de cette analyse WES diagnostique, 70% de ces patients demeurent sans cause moléculaire identifiée car les corrélations génotype-phénotype sont limitées par le manque de récurrence et les connaissances scientifiques actuelles parcellaires. Une analyse complémentaire des données de WES en recherche, c'est-à-dire étendue à l'ensemble des gènes, semble essentielle pour identifier la cause moléculaire de la maladie chez ces patients.
Nous avons analysé les données de WES solo de 283 patients avec AD/DI, négatifs après une analyse diagnostique (gènes OMIM). L'interprétation a été étendue à l'ensemble des variations rares en examinant pour chacune d'entre elles la conservation des acides aminés, le profil d'expression du gène, la fonction de la protéine et ses interactions, les modèles animaux existants et les données bibliographiques. La participation active à un réseau de partage des données international (Genematcher) a facilité l'identification d'autres patients avec un phénotype/génotype similaire, le développement de collaborations et la confirmation de la pathogénicité de gènes candidats.
Cette stratégie a permis d'identifier une/des variations causal(es) chez 22% des patients et candidat(es) chez 6% des patients, dans 67 gènes différents classés selon les catégories suivantes : (1) 22 nouveaux gènes inconnus en pathologie humaine; (2) 14 gènes récemment décrits dans la littérature et non encore répertoriés dans la base OMIM au moment de l'analyse; (3) 11 gènes par extension du spectre génotypique ou phénotypique; (4) 20 gènes en attente de récurrence mais dont les données *in silico* et/ou fonctionnelles en font des candidats sérieux.
Cette étude démontre, chez les patients négatifs après une analyse WES diagnostique, l'efficacité de l'extension de l'interprétation en recherche des données de WES dans les AD/DI. Cette stratégie rapide, sans surcoût de séquençage mais coûteuse en temps humain, augmente significativement le taux de cas résolus et suggère qu'il reste encore de nombreuses causes moléculaires à identifier parmi les régions codantes, d'où l'importance d'exploiter d'avantage les données issues du WES avant d'utiliser d'autres technologies omics. Elle souligne également la nécessité d'une équipe de génétique translationnelle clinico-biologique intégrée.

2018_01_assises_Bruel_exomes_rech_vf.docx

P611 : Microdélétion 4q25 incluant PITX2 : un patient présentant une tétralogie de Fallot et des anomalies dentaire sans atteinte oculaire

Auteurs :

Pierre Vande Perre (1, 2), Celia Zazo Seco (3), Olivier Patat (1, 3), Laurence Bouneau (1), Adeline Vigouroux (1), Dominique Bourgeois (1), Safa El Hout (4), Nicolas Chassaing (1, 3), Patrick Calvas (1, 3)

1. Service de Génétique Médicale, Hôpital Purpan; CHU de Toulouse, Toulouse, France
2. Oncogénétique, Institut Claudius Regaud, IUCT-Oncopôle, Toulouse, France
3. UDEAR, Université de Toulouse, UMRS 1056 Inserm-Université Paul Sabatier, Toulouse, France
4. Service d'Ophtalmologie, Hôpital Purpan; CHU de Toulouse, Toulouse, France

Mots clefs : PITX2, 4q25, Tetralogie de Fallot, syndrome d'Axenfeld-Rieger

Résumé :

Le syndrome d'Axenfeld-Rieger (ARS) est une entité clinique complexe transmise sur un mode autosomique dominant. Le signe principal, l'anomalie d'Axenfeld-Rieger (ARA), est constitué d'une malformation du segment antérieur de l'œil pouvant induire un glaucome et une altération de la vision. Des manifestations extra-oculaires sont également rapportées. Les mutations ponctuelles de *FOXC1* et *PITX2* sont impliquées dans environ 40% des cas d'ARS. Nous décrivons un patient porteur d'une délétion du locus 4q25 contenant le gène *PITX2*. Cet enfant est porteur d'une Tétralogie de Fallot, TOF, une agénésie dentaire mais est exempt d'ARA. Il s'agit du premier patient décrit présentant une TOF associée à une délétion complète de *PITX2* (arr[GRCh37]4q25(110843057-112077858)x1, incluant *PITX2*, *EGF*, *ELOVL6* and *ENPEP*) héritée de sa mère qui présente un ARS. Par ailleurs, à notre connaissance, il s'agit du premier patient décrit avec une haploinsuffisance de *PITX2* sans aucun signe oculaire. Nous avons comparé le phénotype et génotype de ce patient à celui de 5 autres patients porteurs de délétion 4q25. Cette étude comparative questionne sur la pénétrance incomplète des malformations oculaires chez les patients porteurs de délétions incluant *PITX2* et la présence d'une tétralogie de Fallot.

abstract PITX2_VF_assises.doc

P612 : Pseud-arthrose du coude chez une patiente atteinte de Neurofibromatose de type 1

Auteurs :

geneviève pierquin (1), saskia bulk (1)

1. génétique clinique, CHU Liège, Liège, Belgique

Mots clefs : pseud-arthrose,neurofibromatose

Résumé :

Nous présentons un patient présentant une pseudarthrose du coude et ses complications chez un enfant ayant un neurofibromatose type 1 et ferons une revue de la littérature concernant cette localisation rare de cette malformation.

P613 : Identification d'une duplication en tandem récurrente dans le gène IFT140 par séquençage du génome complet de patients atteints de ciliopathie

Auteurs :

Véronique GEOFFROY (1), Corinne STOETZEL (1), Elise SCHAEFER (2, 3), Sophie SCHEIDECKER (4, 3), Isabelle PERRAULT (5), Séverine BAR (6), Ariane KROLL (3), Marion DELBARRE (4), Anne-Sophie JAEGER (4), Manuela ANTIN (4), Charline HENRY (7), Hélène BLANCHE (8), Eva DECKER (9), Steven MCGINN (10), Anne BOLAND (10), Jean-François DELEUZE (11), Sylvie FRIANT (6), Sophie SAUNIER (7), Jean-Michel ROZET (5), Carsten BERGMANN (9, 12), Hélène DOLLFUS (1, 2), Jean MULLER (13, 14)

1. Laboratoire de Génétique médicale, UMR_S INSERM U1112, IGMA, Faculté de Médecine FMTS, Université de Strasbourg, Strasbourg, France
2. Service de Génétique Médicale, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
3. Laboratoire de Génétique médicale, UMR_S INSERM U1112, Faculté de Médecine, Université de Strasbourg,, Strasbourg, France
4. Laboratoires de Diagnostic Génétique, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
5. Laboratory of Genetics in Ophthalmology (LGO), INSERM UMR1163, Institute of Genetic Diseases, Imagine Foundation, Paris Descartes University, Paris, France
6. Department of Molecular and Cellular Genetics, UMR7156, CNRS, Université de Strasbourg, Strasbourg, France
7. INSERM, U983, Paris Descartes University, Paris, France
8. Centre d'études du polymorphisme humain, Fondation Jean Dausset, Paris, France
9. Center for Human Genetics, Bioscientia, Ingelheim, Allemagne
10. CNRGH, Institut de Biologie François Jacob, DRF, CEA, Evry, France
11. CNRGH, Institut de Biologie François Jacob, DRF, CEA, Strasbourg, France
12. Center for Clinical Research, University Hospital Freiburg, Freiburg, Allemagne
13. Laboratoires de Diagnostic Génétique, IGMA, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
14. Laboratoire de Génétique médicale, UMR_S INSERM U1112, IGMA, Faculté de Médecine, Université de Strasbourg, Strasbourg, France

Mots clefs : IFT140, syndrome de Saldino-Mainzer, duplication en tandem, récurrente, grands réarrangements, recombinaison Alu-Alu

Résumé :

Le syndrome de Saldino-Mainzer (SSM, MIM 266920) est une ciliopathie rare à transmission autosomique récessive causée par des mutations dans les gènes *IFT140* et *IFT172*. Il est caractérisé par l'association d'une atteinte rénale, d'une dystrophie rétinienne (rétinopathie pigmentaire), d'une ataxie cérébelleuse et d'une dysplasie osseuse. Ces 2 gènes sont également impliqués dans plusieurs autres ciliopathies allant de la rétinopathie pigmentaire isolée, au syndrome de Jeune et au syndrome de Bardet-Biedl.
Nous rapportons ici l'étude d'une famille avec 2 enfants atteints d'une ciliopathie non étiquetée. L'analyse des génomes complets de cette famille a permis pour la première fois de mettre en évidence une variation structurale dans le gène *IFT140.* Cette mutation n'avait pas été détectée par les approches classiques incluant un panel de gènes et un exome complet. Il s'agit d'une duplication en tandem des exons 27 à 30 (de taille 6,7 kb) identifiée à l'état hétérozygote chez les 2 patients atteints. Cette duplication, transmise par la mère, est associée à une seconde mutation pathogène altérant l'épissage du gène (c.2577+25G > A), transmise par le père, et qui n'avait pas été considérée au préalable.
L'analyse de l'ARN réalisée sur les fibroblastes de patients a révélé que les exons dupliqués sont bien transcrits. L'analyse des protéines par Western Blot suggère que l'allèle portant la duplication n'est pas traduit. Les fibroblastes des patients ont été observés par microscopie confocale après immuno-marquage d'IFT140 et de la tubuline acétylée (un marqueur du cil primaire). Les observations microscopiques montrent d'une part une réduction du nombre de cellules porteuses d'un cil et d'autre part, une forte diminution de la localisation de la protéine IFT140 à la base du cil (14% des cellules ciliées) par rapport à des fibroblastes contrôles (82% des cellules ciliées).
La caractérisation bioinformatique des points de cassure de la duplication suggère une possible recombinaison médiée par des séquences *Alu*. Conscient que cet évènement est peut-être plus fréquent et certainement mal détecté par les outils disponibles, nous avons ainsi entrepris une analyse rétrospective chez près de 500 patients atteints de rétinopathies isolées ou syndromiques. Ce criblage a permis de mettre en évidence 7 familles additionnelles porteuses de la duplication, dont 2 à l'état homozygote.
Nos résultats permettent ainsi d'étendre le spectre des mutations du gène *IFT140* et de confirmer l'intérêt du séquençage du génome complet, en particulier dans sa capacité à détecter les variations structurales.

P614 : Nenufaar : une chaine de traitement complète, flexible et open-source, pour l'analyse de données NGS en constitutionnel

Auteurs :

David Baux (1), Jean-Philippe Villemin (2), Charles Van Goethem (3), Kevin Yauy (1), Henri Pégeot (1), Mireille Claustres (2), Michel Koenig (1, 2), Anne-françoise Roux (1, 2)

1. Laboratoire de génétique moléculaire, CHU Montpellier, Montpellier, France
2. Laboratoire de génétique des maladies rares, EA7402, Université de Montpellier, Montpellier, France
3. Laboratoire de biopathologie cellulaire et tissulaire des tumeurs, CHU Montpellier, Montpellier, France

Mots clefs : bioinformatique, traitement de données NGS, annotation de variants

Résumé :

Le traitement bioinformatique des données de séquençage haut-débit est parfois décrit, avec l'interprétation des variants, comme l'étape limitante de l'analyse du fait d'un accès limité à des ressources informatiques suffisamment performantes.
Pourtant l'utilisation de chaines de traitement de données, ou « pipelines », performants est cruciale pour une analyse pertinente des données de séquençage. L'utilisation de logiciels variés notamment pour l'étape d'identification de variants, voire l'utilisation de plusieurs pipelines permet de réduire de manière significative le nombre de faux-négatifs (variants présents mais non identifiés par l'algorithme) et donc de rendre plus efficace l'exploitation des données générées.
La finalisation de grands projets de séquençage ou d'analyse (1000 génomes, ExAC/gnomAD) ont permis notamment le développement d'algorithmes efficaces et de recommandations (cf. les bonnes pratiques GATK https://software.broadinstitute.org/gatk/best-practices/).
Forts de ces constats et avancées, nous avons développé un pipeline baptisé Nenufaar. Nenufaar est capable de fonctionner en environnement UNIX (Linux, MacOS) classique ou haute performance (cluster de calcul). Toutes les étapes nécessitant du calcul intensif sont parallélisées notamment par des scripts GATK-QUEUE dédiés et utilisent réellement les capacités de la machine hôte.
Le workflow peut inclure 2 algorithmes d'identification de variants (GATK-UG/HC selon l'application et Platypus) et est capable de traiter des données issues d'amplicons, de capture, et de différentes échelles, à savoir de panels de gènes, d'exomes ou de génomes.
Le pipeline est validé par une comparaison avec le génome de l'échantillon NA12878 (Genome in a Bottle), portant sur plus de 3 000 000 de variants avec une sensibilité de 97,2% et une spécificité de 99,9%.
Nenufaar est distribué avec 2 programmes compagnons qui permettent pour l'un l'annotation des variants obtenus et pour l'autre de faire fonctionner un mode « famille ». L'annotation elle aussi est flexible et utilise ANNOVAR et/ou CAVA et permet notamment d'obtenir les données issues de séquençage de populations (gnomAD), de prédictions pour les faux-sens (ANNOVAR inclut les données de dbNSFP pour 26 prédicteurs dont SIFT, Polyphen...), pour l'épissage (dbscSNV, Spidex). Nenufaar peut aussi filtrer seul les variants fréquents. Le mode « famille » permet de visualiser les variants dans un fichier tabulé unique et de filtrer les variants selon le mode de transmission.
Nenufaar est utilisé depuis deux ans au laboratoire de génétique moléculaire du CHU de Montpellier, et est notamment utilisé en complément d'un pipeline commercial pour l'analyse des échantillons présentant une atteinte neurosensorielle (~500 échantillons déjà analysés), ainsi que pour l'analyse des exomes et exomes cliniques. Nenufaar est disponible sur GitHub (https://github.com/mobidic/nenufaar).

résumé_assises_2018_final.docx

P615 : Apport du Séquençage Haut-Débit dans le diagnostic moléculaire des rétinites pigmentaires autosomiques dominantes et liées à l'X : comparaison de quatre stratégies diagnostiques

Auteurs :

Valérie CHUNE (1), Aurore DEVOS (2), Charlene PIRIOU (2), Emeline GOREKI (2), Catherine VINCENT-DELORME (3), Hélène DOLLFUS (4), Isabelle MEUNIER (5), Bernard PUECH (6), Sabine DEFOORT (6), Xavier ZANLONGHI (7), Christian HAMEL (5), CLAIRE-MARIE DHAENENS (2)

1. Institut de Biochimie et Biologie Moleculaire, CHRU LILLE, Paris, France
2. Institut de Biochimie et Biologie Moleculaire, CHRU LILLE, lille, France
3. Génétique médicale, CHRU LILLE, lille, France
4. Centre de Référence pour les affections rares en génétique ophtalmologique, CARGO, Filière SENSGENE, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, strasbourg, France
5. Centre de Référence Génétique des maladies neurosensorielles, CHRU Montpellier, montpellier, France
6. Service d'Explorations Fonctionnelles de la Vision et de Neuro-ophtalomologie, CHRU LILLE, lille, France
7. Clinique Jules Verne, NANTES, NANTES, France

Mots clefs : rétinite pigmentaire, séquençage haut débit, prévalence, diagnostic moléculaire

Résumé :

La rétinite pigmentaire (RP) regroupe un ensemble de maladies héréditaires de la rétine, très hétérogènes sur le plan clinique et génétique. Leur prévalence est estimée à 1/4000 individus. La RP est caractérisée par la perte progressive et graduelle de la vision liée à l'altération des photorécepteurs. Plus d'une cinquantaine de gènes ont été identifiés dans cette pathologie. Le laboratoire du CHRU de Lille est recours national pour le diagnostic moléculaire des RP liées à l'X ou dominantes depuis 2008, et utilise dorénavant le séquençage haut débit (SHD), qui permet une analyse exhaustive et non plus séquentielle et partielle des gènes. L'objectif de notre étude était d'évaluer la prévalence des gènes responsables de rétinites pigmentaires autosomiques dominantes et liés à l'X en France et de comparer quatre stratégies de diagnostic génétique développées pour leur identification.
627 patients issus de l'ensemble du territoire et atteints de RP ont été analysés entre 2008 et 2017, tout d'abord par séquençage ciblé des points chauds mutationnels par technique Sanger (n=337) puis par séquençage haut débit selon 3 modalités : i) un panel de 12 gènes sur le séquenceur PGM (Life Technologies) (n=193), ii) un panel de 18 gènes (n=95) et iii) un panel de 150 gènes (n=32) sur séquenceurs Illumina.
Un diagnostic moléculaire a été établi chez 33,12% des patients analysés. Les gènes les plus fréquemment identifiés sont *RHO* (10.56%), *PRPH2* (4.96%) et *RP1* (4%). Parmi les 265 variants identifiés, 106 n'ont jamais été décrits dans la littérature. Nous montrons que l'analyse par SHD, bien que permettant l'analyse de toutes les régions codantes des gènes, n'améliore pas significativement le nombre de diagnostics positifs par rapport au séquençage ciblé par méthode Sanger. Enfin les grands panels de gènes ont surtout permis d'élucider des formes récessives et atypiques sur le plan phénotypique. Le SHD offre également l'avantage d'une analyse simultanée d'un grand nombre de gènes pour un grand nombre de patients à moindre coût. Nous rapportons l'analyse de la plus grande cohorte de rétinite pigmentaire sur le plan international. Ce travail a permis d'identifier un grand nombre de variants non décrits et de réaliser une corrélation génotype/phénotype. Une meilleure connaissance de ces pathologies et l'identification des gènes en cause est un prérequis pour de futures inclusions de ces patients dans des essais médicamenteux ou de thérapie génique.

DHAENENS CM Assises génétique 2018.pdf

P616 : VarAFT : Un système d'annotation et de filtration pour les données issues de séquençage haut débit.

Auteurs :

Jean-Pierre Desvignes (1), Marc Bartoli (1), Valérie Delague (1), Martin Krahn (1, 2), Christophe Béroud (3, 2), David Salgado (4)

1. GMGF UMR_S 910, Aix Marseille Université, MARSEILLE, France
2. Département de Génétique et de biologie Cellulaire, APHM, MARSEILLE, France
3. GMGF UMR_S 910, Aix Marseille University AMU, MARSEILLE, France
4. GMGF UMR_S 910, INSERM, MARSEILLE, France

Mots clefs : Mutations, Génétique, NGS, Annotation, Filtration, Logiciel, Exome, Génome, Panel

Résumé :

Le séquençage haut débit (NGS) produit des centaines de millions de séquences par exome ou genome. L'analyse des données brutes jusqu'à l'identification des mutations n'est plus un frein mais l'étape d'annotation et de filtration reste encore délicate et cruciale dans l'identification des mutations candidates. Pour répondre à ce défi différents systèmes ont été développés ces dernières années mais aucun ne répond complètement aux besoins des utilisateurs tout en assurant la confidentialité des données.
Dans ce contexte nous avons développé VarAFT (Variant Annotation and Filter Tool – http://varaft.eu) qui est un logiciel multiplateforme écrit en JAVA permettant l'annotation, l'analyse et la filtration des mutations ainsi que l'analyse de couverture.
Le premier module permet l'annotation de fichiers VCF/gVCF grâce aux système ANNOVAR implémenté et récupère les prédictions d'UMD-Predictor (http://umd-predictor.eu) et de Human Splicing Finder (HSF - http://umd.be.hsf3/).
Le second module permet de combiner les fichiers annotés. Il peut être aussi bien utilisé dans une analyse familiale quel que soit le mode de transmission, que dans une analyse de cohorte ou que dans l'étude de cancers. L'analyse peut être préalablement restreinte grâce à l'utilisation d'une liste de gènes. Ce module offre de nombreuses options de filtration permettant de réduire le nombre de mutations. Ces filtres utilisent les informations sur la nature des variants ; la fréquence d'observation (gnomAD,1000 génomes …) ; les prédictions de différents outils (SIFT, PolyPhen, CADD, UMD-Predictor …) ; des données liées au gène (OMIM, HPO, Gene Ontology, KEGG, Reactome, PID, GTeX) ; une base de données locale de mutations créée par l'utilisateur. Pour faciliter la filtration de gros fichiers ou de nombreux fichiers, un système de traitement automatisé utilisant des filtres prédéfinis par l'utilisateur a été implémenté.
Enfin le troisième module permet l'évaluation de la qualité de l'expérience. Il fournit la couverture de chaque transcrit, exon ou base grâce à des tableaux et graphiques dynamiques qui peuvent être exportés et inclus dans des rapports.
VarAFT est aujourd'hui très utilisé tant pour la recherche que pour le diagnostic (environ 400 utilisateurs de 37 pays). Il a ainsi permis l'identification de nouveaux gènes impliqués dans différentes pathologies génétiques (Jallades et al, Saultier et al, Elouej et al, Marquet et al, Cerino et al (2017), Galant et al, Lacoste et al, Miltgen et al (2016), Rapetti-Mauss et al 2015, Bartoli et al 2014).
VarAFT a également servi de modèle pour la création de la plateforme RD-Connect (Thompson et al 2014).
En conclusion VarAFT est un l'outil d'annotation et de filtration multiplateforme le plus complet accessible aux non bioinformaticiens et permet en peu d'étapes d'obtenir une liste réduite de mutations candidates facilitant ainsi la recherche et le diagnostic. Il peut être utilisé pour des panels de gènes, des exomes ou des génomes.

VarAFT_Assises_Génétique.docx

P617 : Détection des microremaniements déséquilibrés par la technologie de capture HaloPlex dans un panel de gènes impliqués dans la déficience intellectuelle

Auteurs :

Caroline Thuillier (1), Jamal Ghoumid (2, 3), Elise Boudry-Labis (1), Odile Boute-Benejean (2, 3), Anne Dieux-Coeslier (2, 3), Bénédicte Duban-Bedu (4), Catherine Vincent-Delorme (2), Sylvie Manouvrier-Hanu (2, 3), Catherine Roche-Lestienne (1), Thomas Smol (1, 3)

1. Institut de génétique médicale, CHRU Lille, Lille, France
2. Service de génétique clinique, CHRU Lille, Lille, France
3. EA7364 RADEME, Université de Lille, Lille, France
4. Centre de génétique chromosomique, GHICL Saint-Vincent, Lille, France

Mots clefs : Haloplex ; panel ; CNV ; déficience intellectuelle

Résumé :

La préparation de librairies par capture HaloPlex (Agilent) utilise un système d'enrichissement de cibles par sondes de capture sur une région prédéfinie. Les fragments d'ADN obtenus après double digestion enzymatique sont circularisés, capturés, puis amplifiés. Si cette technologie permet de multiplier les amplicons différents sur une même cible, l'hétérogénéité des tailles d'amplicons, associée à un taux non négligeable de duplicons, complexifie l'extrapolation des données de profondeur pour la détection des réarrangements déséquilibrés (CNV). Pour cette étude, nous avons appliqué une double normalisation des données de profondeurs, intra et inter patients d'un même run, pour la détection de CNV dans une cohorte de patients présentant une déficience intellectuelle isolée ou syndromique.
Les données de séquençages issues de 350 patients ont été réanalysées pour l'étude. Chaque patient avait préalablement bénéficié d'une CGH 60K sans particularité. Les données de qualités de chaque run ont été générées à partir des fichiers .bam depuis le software DepthOfCoverage (GATK). Nous avons normalisé la profondeur estimée de chaque cible par la profondeur totale déterminée par patient (NP). La moyenne de profondeur de chaque cible par run a ensuite été calculée à partir des données NP (NR). Un ratio NP/NR par patient et par cible supérieur à 1.4 était en faveur d'une duplication, un ratio inférieur à 0.6 en faveur d'une délétion. Deux valeurs consécutives variant dans le même sens étaient considérées pour une recherche approfondie de CNV. Les coefficients de variations (CV) intra et interindividuels de chaque cible ont également été calculés. Chaque CNV détecté a été validé par qPCR.
Cette première approche de détection de CNV concernait 281 analyses d'un panel de 77 gènes dont 236 négatives et 69 analyses d'un panel de 285 gènes dont 56 négatives avec respectivement 1 373 et 5 137 cibles par panels. Le coefficient de variation médian intra-patients était de 12.0% [7.0% ; 28.3%]. Les médianes d'événements uniques détectés sur le panel de 77 gènes étaient bien corrélées au CV intra-patient et évaluées à 1 pour un CV < 10% ; 3 pour un CV entre 10 et 20% ; 108 pour un CV > 20%. Ces médianes chutaient significativement lorsque l'on considérait 2 évènements consécutifs, elles étaient alors estimées à ≤1 et 5,5 respectivement pour les CV≤20% et > 20%. Quatre microdélétions, considérées comme pathogènes et corrélées avec les données cliniques, ont pu être détectées (1.5%), d'une taille minimale moyenne de 38,446pb [10,868 ; 49,462] et emportant en moyenne 10 exons [2 ; 17] sur les gènes *SHANK3* (n=2), *KANSL1* (n=1) et *CHD8* (n=1).
L'application d'un algorithme maison sur des données issue d'HaloPlex a permis une première approche dans la détection des CNV. Cependant, il ne permet pas de s'affranchir complétement d'un bruit de fond. Une optimisation de l'algorithme est à l'étude afin de pondérer les écarts de profondeurs.

P618 : Diagnostic moléculaire des surdités génétiques les plus fréquentes à l'aide d'un panel NGS de 8 gènes

Auteurs :

Guillaume Jouret (1), Virginie Grybeck (1), Céline Poirsier (1), Dominique Gaillard (1), Martine Doco-Fenzy (1), Anne-Sophie Lebre (1)

1. Service de Génétique Médicale, CHU Hôpital Maison Blanche, CHU Reims, Reims, France

Mots clefs : Surdité, syndrome de Usher, panel NGS, prise en charge

Résumé :

Introduction. La surdité est le déficit sensoriel le plus fréquent, atteignant 360 millions de personnes dans le monde, et 50% des surdités sont considérées comme d'origine génétique. Dans l'état actuel des connaissances, un diagnostic moléculaire de certitude peut être identifié chez 45% des patients. Les mutations des gènes *GJB2* et *GJB6* sont reconnues comme la première cause de surdité génétique, et leur séquençage en première intention permet un rendement diagnostique de 16,7%. Pour améliorer ce rendement diagnostique, nous avons mis en place un panel NGS de 8 gènes que nous avons séquencés chez une cohorte de patients suivis au CHU de Reims pour surdité neurosensorielle.
Méthodes. Les patients avec surdité neurosensorielle suivis et prélevés au CHU de Reims entre 2004 et 2017 ont été inclus dans notre étude et ont bénéficié de l'étude des gènes *GJB2*, *GJB6*, *USH2A*, *CDH23*, *MYO7A*, *MYO15A*, *SLC26A4* et *WFS1*.
Résultats. 189 patients ont été inclus dans notre étude. Un diagnostic de certitude a été posé chez 32% (60/189) des patients. 13 patients portaient des mutations de gènes associés au syndrome de Usher, dont 6 enfants de moins de 11 ans sans signe clinique d'atteinte visuelle au moment de cette étude. Ces enfants vont bénéficier d'une prise en charge et d'un suivi ophtalmologique et audiophonologique adapté. 20 patients portaient 1 seule mutation de *GJB2* et la question d'un mode de transmission autosomique dominant est discutée. 11 nouvelles mutations ont été rapportées pour la première fois dans cette étude. L'analyse de variation du nombre de copies (*copy number variation*) des données issues du NGS a permis de rechercher la délétion récurrente del(GJB6-D13S1830) sans étude complémentaire. Afin de compléter l'offre diagnostique au CHU de Reims, un panel de 81 gènes sera mis en place en janvier 2018 afin d'atteindre un rendement diagnostique théorique de 45%.

P619 : Diagnostic clinique et moléculaire du syndrome Branchio-Oculo-Facial chez un patient marocain

Auteurs :

Mouna Ouhenach (1), wafaa jdioui (2), Ilham Ratbi (3), Nawfal Fejjal (4), abdelaziz sefiani (3)

1. Département de Génétique Médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Maroc, Centre de Génomique Humaine, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université mohammad V Rabat, Maroc., rabat, Maroc
2. Département de Génétique Médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Maroc, Centre de Génomique Humaine, Faculté de Médecine et de Pharmacie,Université Mohammed V Rabat, Maroc, rabat, Maroc
3. Département de Génétique Médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Maroc, Centre de Génomique Humaine, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université Mohammed V Rabat, Maroc, rabat, Maroc
4. service de chirurgie pédiatrique ,Hôpital d'enfants, CHU Ibn Sina, Rabat, Faculté de Médecine et de Pharmacie , Université Mohammed V rabat , Maroc, rabat, Maroc

Mots clefs : syndrome branchio-oculo-facial, gène TFAP2A, conseil génétique

Résumé :

Le syndrome branchio-oculo-facial (Branchio-Oculo-Facial Syndrom BOFS) est un syndrome crânio-facial rare de prévalence inconnue, avec moins de 100 cas décrits dans la littérature. Il s'agit d'une maladie génétique à transmission autosomique dominante, caractérisée sur le plan clinique par des anomalies cutanées branchiales de sévérité variable, des anomalies oculaires à type de microphtalmie, anophtalmie, colobomes, sténose du conduit lacrymo-nasal et une dysmorphie faciale caractéristique avec fente labiale avec ou sans fente palatine. Les malformations de l'oreille externe et la surdité sont fréquentes. La plupart des patients ont une intelligence normale.
Le BOFS est dû à des délétions ou des mutations ponctuelles du gène TFAP2A avec hot spot décrit au niveau des exons 4 et 5. Ces mutations surviennent de novo dans 50 à 60% des cas.
Nous rapportons l'observation d'un nourrisson marocain de 4 mois, non consanguin, troisième d'une fratrie de 3 présentant un tableau clinique faisant évoquer le diagnostic du BOFS : une dysmorphie faciale, fente labiale bilatérale, des anomalies oculaires à savoir un hypertélorisme, une dyschromie irienne, des colobomes rétiniens, des anomalies branchiales à type d'érosions rétro-auriculaires, une urétérohydronéphrose bilatérale plus marquée à droite et une surdité.
L'étude moléculaire du gène TFAP2A par séquençage des exons 4 et 5 a retrouvé la mutation c.806 T > C déjà rapportée dans la littérature. Cette mutation est absente chez les parents du propositus, confirmant ainsi le caractère de novo de la maladie.
L'analyse moléculaire a permis donc de confirmer le diagnostic suspecté cliniquement et proposer un conseil génétique adéquat à la famille. Le patient nécessite une prise en charge multidisciplinaire surtout basée sur la chirurgie des malformations et une surveillance pédiatrique et ophtalmologique régulière.

Diagnostic clinique et moléculaire du Syndrome Branchio.docx

P620 : « COV'COP » ou comment détecter des CNVs pathogènes en quelques clics

Auteurs :

Paco Derouault (1), Béatrice Parfait (2, 3), Corinne Magdelaine (4, 1), Hélène Dzugan (1, 4), Franck Sturtz (4, 1), Stéphane Merillou (5), Anne-Sophie LIA (4, 1)

1. EA6309, Faculté de Limoges, Université de Limoges, Limoges, France
2. Génétique et Biologie Moléculaires, Hôpital Cochin, Paris, France
3. EA7331, Faculté de Pharmacie, Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, Paris, France
4. Biochimie et Génétique Moléculaire, CHU de Limoges, Limoges, France
5. UMR-CNRS7252-X-LIM, Université de Limoges, Limoges, France

Mots clefs : CNV, NGS, Diagnostic

Résumé :

De nombreuses maladies héréditaires sont provoquées par des duplications ou des délétions de gènes ou de fragments d'ADN, correspondant aux Variations du Nombre de Copies (CNVs). Le séquençage Next Generation Sequencing (NGS) issu de librairies Ampliseq permet de détecter très efficacement les Polymorphismes Nucléotidiques Simples (SNPs). Cependant, aucun outil n'est disponible ou facilement utilisable, à ce jour, pour détecter les CNVs responsables de maladies génétiques héréditaires.
Nous avons développé « Cov'Cop », un outil intuitif *, capable de détecter les CNVs à partir de données de séquençage NGS ampliseq. En utilisant le fichier « coverage » du run fourni par le séquenceur, « Cov'Cop » analyse simultanément tous les patients du run grâce à un algorithme contenant une étape de corrections et une étape de normalisations. En quelques clics, « Cov'Cop » produit des résultats facilement interprétables mettant en évidence les zones potentiellement délétées et/ou dupliquées.
Nous avons validé notre méthode sur plusieurs jeux de données, parmi lesquelles des CNVs avaient été initialement détectées par MLPA : nous présentons ici la détection par « Cov'Cop » de duplications et de délétions du gène PMP22, impliquées respectivement dans la maladie de Charcot-Marie-Tooth (CMT) et dans les Neuropathies Héréditaires par hypersensibilité à la Pression (HNPP). De plus, « Cov'Cop » a permis la détection de CNVs inédits que nous avons confirmés par PCR quantitative. Leur pathogénicité est actuellement en cours d'analyse.
« Cov'Cop » est une application écrite en Java, et donc directement utilisable sur différents systèmes d'exploitation (Windows, Mac OS, Linux) grâce à un fichier exécutable téléchargeable sur notre site (https://git.unilim.fr/merilp02/CovCop). Il a été conçu pour fonctionner de façon intuitive. L'analyse des résultats est effectuée en temps réel, ce qui permet à l'utilisateur de modifier ses préférences (Seuils de détection, etc…) afin d'optimiser son analyse en quelques secondes. Pour toutes ces raisons, nous sommes certains que « Cov'Cop » permettra d'aider un grand nombre de généticiens à identifier rapidement et efficacement des CNVs d'intérêt.
*Référence : Derouault P et al. 'COV'COP' allows to detect CNVs responsible for inherited diseases among amplicons sequencing data. Bioinformatics. 2017 May 15;33(10):1586-1588.

Assises de Génétique 2018 - Dr Anne-Sophie LIA.docx

P621 : Difficultés du diagnostic prénatal devant l'association Cardiopathie - Fente palatine ou Séquence de Pierre Robin : un diagnostic à ne pas manquer !

Auteurs :

Lucile PINSON (1), Patricia BLANCHET (1), Emmanuelle HAQUET (1), Pierre BOULOT (2), Florent FUCHS (2), Jean-Michel FAURE (2), Michèle BIGORRE (2), Anouck SCHNEIDER (3), Nicole REVENCU (4), Pierre SARDA (1), David GENEVIEVE (1)

1. Département de Génétique Médicale, Maladies Rares et Médecine personnalisée, Service de Génétique Clinique, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
2. Centre Pluridisciplinaire de Diagnostic Prénatal, Service de Gynécologie Obstétrique, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
3. Département de Génétique Médicale, Maladies Rares et Médecine personnalisée, Unité de Génétique Chromosomique, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
4. Laboratoire de Génétique Moléculaire, Université Catholique de Louvain, Bruxelles, Belgique

Mots clefs : Lymphœdème-Distichiasis, FOXC2, cardiopathie congénitale, fente palatine, séquence de Pierre Robin, prénatal

Résumé :

Malgré les progrès du diagnostic moléculaire, le diagnostic étiologique des malformations anténatales reste souvent difficile. Les bases de données cliniques proposent plus de 70 diagnostics non chromosomiques devant l'association d'une fente palatine et d'une cardiopathie congénitale. Un interrogatoire minutieux nous a permis de porter le diagnostic inattendu de syndrome Lymphœdème-Distichiasis (MIM #153400) pour 2 familles non apparentées confrontées pour l'une à la découverte anténatale d'une fente palatine associée à une communication interventriculaire et pour l'autre à la découverte d'une fente palatine et d'une séquence de Pierre Robin chez des jumeaux monozygotes, dont la mère a été opérée d'une tétralogie de Fallot et d'une fente palatine.
La consultation des carnets de santé retrouve un distichiasis chez le père dans la première famille et chez la mère dans la seconde. L'interrogatoire retient chez chacun d'entre eux l'apparition d'œdèmes des membres inférieurs à l'adolescence. Les analyses par puce à ADN à partir de ponction de liquide amniotique sont normales. Le conseil génétique est rassurant devant des malformations de bon pronostic et l'absence de déficience intellectuelle dans le syndrome Lymphœdème-Distichiasis.
Le syndrome Lymphœdème-Distichiasis est d'expressivité variable. Il se transmet sur un mode autosomique dominant. Il est caractérisé par un lymphœdème primaire des membres inférieurs débutant généralement à la puberté et par un distichiasis (cils surnuméraires au niveau des glandes de Meibomius). Le distichiasis, présent dans 94 % des cas, peut être asymptomatique ou peut entraîner des conjonctivites ou des ulcérations cornéennes. Le lymphœdème peut être unilatéral, voire congénital. D'autres manifestations peuvent être associées incluant des anomalies cardiaques dans 7 % des cas, une fente palatine dans 4% des cas, des varices, des kystes extraduraux, une anasarque ou un hygroma en période anténatale. Le seul gène responsable connu à ce jour est le gène FOXC2 (16q24.3), codant pour le facteur de transcription FOXC2. Une délétion de 8 nucléotides à l'état hétérozygote entrainant un codon stop prématuré est retrouvée en postnatal dans l'unique exon du gène FOXC2 chez le père et son fils dans la première famille. Le bilan postnatal montrera chez cet enfant un distichiasis et une communication interventriculaire. Le diagnostic moléculaire est en cours dans la seconde famille dont les enfants présentent une séquence de Pierre Robin et une coarctation aortique pour l'un, et une fente palatine et une communication interauriculaire pour l'autre.
Nous soulignons ici l'importance de l'interrogatoire en anténatal. Nous insistons sur le caractère potentiellement malformatif du syndrome Lymphœdème-Distichiasis et sur l'hétérogénéité phénotypique de son expression anténatale.

PINSON_Poster_Assises_Génétique_2018.docx

P622 : LES PROGRES EN GENETIQUE DU GLAUCOME PRIMITIF A ANGLE OUVERT

Auteurs :

salima Zekri (1), Sabah Hanachi (2), Karima Sifi (2), Cherifa Benlatreche (2), Noredine Abadi (2), Karima Benmebarek (2)

1. EHS Daksi Constantine, (1) Laboratoire de génétique et biologie moléculaire Constantine université3, Constantine, Algérie
2. laboratoire de biochimie CHU Costantine, (1) Laboratoire de génétique et biologie moléculaire Constantine université3, Constantine, Algérie

Mots clefs : Gènes MYOC, CYP1B1,GSTM1, NTF4,OPTN,WDR36

Résumé :

INTRODUCTION

Le glaucome est une neuropathie optique. C'est la principale cause de cécité dans le monde avec aucun remède connu. On estime qu'elle touche environ 70 millions de personnes, dont 6,7 millions sont bilatéralement aveugles.
Le glaucome à angle ouvert primaire (GPAO) est une maladie multifactorielle où les facteurs génétiques et environnementaux sont impliqués dans la pathogenèse, pour progresser dans la compréhension de GPAO, il est nécessaire d'identifier plusieurs gènes causant de GPAO.

METHODES

Jusqu'à ce jour, au moins 29 loci génétiques ont été trouvés être lié à GPAO. Cependant, le rôle de seulement trois gènes sous-jacents myociline (MYOC), optineurine (OPTN) et WD repeat Domain 36, (WDR36) est bien établie. En outre, le rôle du cytochrome P450, la famille 1, sous-famille B, polypeptide 1 (CYP1B1), glutathion S-transférase mu 1 (GSTM1) et neurotrophine (NTF4) a été assez identifié.
Les études d'association ont constaté que 66 loci avec 76 gènes associés à GPAO jusqu'à ce jour, Les mutations génétiques dans diverses populations ont été identifiées par des études génétiques pour établir que 5% environ de GPAO est actuellement attribué à un seul gène ou formes mendélienne de glaucome et d'autres causées par les effets combinés de nombreux facteurs de risque génétiques et environnementaux, dont chacun deux ne peux agir seul pour causer le glaucome.
Nous résumons les progrès récents dans la pathogenèse du glaucome. En particulier, nous émettons l'hypothèse que, en présence de facteurs de risque génétiques, l'exposition à l'environnement souligne les résultats dans un âge plus précoce de l'apparition du glaucome.
Les facteurs de risque génétiques sont connus pour contribuer à GPAO des parents au premier degré de personnes touchées sont 3-9 fois plus susceptibles de développer la maladie.

RESULTATS

À ce jour, *MYOC* est le gène responsable de la maladie incontesté du GPAO, et les effets glaucome causant des OPTN et APOE ont été de manière incohérente.
La découverte du gène MYOC, sa localisation dans l'intervalle de susceptibilité était confirmée, caractérisé par son organisation génomique en trois exons.Les mutations décrites à ce jour sont situées dans le troisième exon du gène qui code pour un domaine peptidique homologue à l'olfactomédine.
Par ailleurs, le gène TIGR est exprimé dans le trabéculum, la sclère et le corps ciliaire alors qu'il ne l'est pas du tout dans la rétine et le nerf optique dont l'atteinte est à l'origine du déficit du champ visuel.

CONCLUSION

Malgré une forte influence génétique dans la pathogenèse du GPAO, seule une petite partie de la maladie peut être expliquée en termes d'aberration génétique.
Il pourrait être possible d'évaluer le risque futur personnel pour le glaucome, de proposée l'hypothèse basée sur la superposition des voies moléculaires dans lesquels les gènes du glaucome sont impliqués et faciliter les stratégies thérapeutiques grâce à des études génétiques.

Assises de génétique 2018 Zekri.docx

P623 : Un cas de neuropathie optique et auditive par mutation du gène SLC52A2 améliorée par administration de Riboflavine.

Auteurs :

Simon Boussion (1), Claire Douillard (2), Isabelle Fajardy (3), Isabelle Drumare-Bouvet (4), Christophe Vincent (5), Sylvie Manouvrier (1), Catherine Vincent-Delorme (1)

1. Clinique de Génétique Guy Fontaine, CHRU de Lille, Lille, France
2. Centre de Référence de Lille des Maladies Héréditaires du Métabolisme, CHRU de Lille, Lille, France
3. Institut de Biologie Moléculaire, Centre de Biologie Pathologie, CHRU de Lille, Lille, France
4. Service d'Ophtalmologie, CHRU de Lille, Lille, France
5. Service d'Otologie et Oto-neurologie, CHRU de Lille, Lille, France

Mots clefs : Riboflavine, SLC52A2, surdité de perception, atrophie optique, syndrome de Brown-Vialetto-Van-Laere, NGS

Résumé :

La Riboflavine (vitamine B2) est le précurseur de la *Flavin adenine dinucleotide* (FAD) et de la *Flavin mononucleotide* (FMN), deux cofacteurs intervenant dans de nombreuses voies métaboliques : oxydation des acides gras, métabolisme des acides aminés ramifiés, de la choline... Les anomalies innées du métabolisme de la Riboflavine engendrent donc de nombreuses pathologies avec atteintes multisystémiques.
Nous rapportons le cas d'une patiente de 28 ans, présentant une neuropathie auditive (surdité de perception profonde bilatérale d'origine centrale avec hypoplasie des nerfs cochléaires), et optique (atrophie optique bilatérale avec aspect grêle des nerfs optiques), d'aggravation progressive depuis l'enfance. Le tableau clinique comportait également une asthénie, une dyspnée d'effort, des signes neurologiques (syndrome cérébelleux, fausses routes, fuites urinaires, tremblements) et une importante labilité émotionnelle. Le développement psychomoteur et intellectuel était normal.
Les premières analyses visant à rechercher une pathologie mitochondriale (étude de la chaîne respiratoire et analyse du génome mitochondrial et des gènes nucléaires impliqués) se sont révélées normales. Puis, les gènes *WFS1, CISD2* (syndrome de Wolfram), *PRPS1, OPA1* et *OPA3* ont été successivement analysés sans identification de variant pathogène. Enfin, en raison de la suspicion d'un déficit en transporteur de la Riboflavine après réévaluation clinique, les gènes *SLC52A2* et *SLC52A3* ont été analysés par séquençage haut débit (NGS).
Celui-ci a révélé la présence, à l'état hétérozygote composite, de deux variants de l'exon 3 de *SLC52A2* : c.863C > T (p.Ala288Val), hérité paternel et c.911C > T (p.Pro304Leu), hérité maternel.
SLC52A2 (OMIM #607882) code le transporteur transmembranaire de la riboflavine de type 2 (hRFT2)[1]. Les mutations de ce gène sont à l'origine du syndrome de Brown-Vialetto-Van-Laere (OMIM #614707), dont le phénotype classique associe neuropathie sensitivo-motrice et atteinte des paires crâniennes débutant dans l'enfance, sans atteinte intellectuelle. Des cas de surdité et atrophie optique ont cependant déjà été rapportés[2]. L'administration de Riboflavine à doses élevées peut constituer un traitement symptomatique efficace.[3] Nous avons ainsi constaté une amélioration significative des troubles de notre patiente après plusieurs mois de traitement substitutif par Riboflavine : amélioration de l'asthénie, de la thymie, des signes neurologiques et surtout des signes ophtalmologiques (acuité visuelle et champ visuel).
Ce diagnostic ne doit donc pas être négligé dans le bilan étiologique d'une neuropathie auditive et optique d'évolution progressive, notamment en raison de l'impact thérapeutique.

[1] Yao et al. J Nutr. 2010;140(7):1220-6.
[2] Haack et al. J Inherit Metab Dis. 2012;35(6):943-8.
[3] Foley et al. Brain. 2014 ;137(Pt 1):44-56

Abstract Poster Assises de Génétique de Nantes 2018 - S.Boussion - C. Vincent-Delorme.docx

P624 : MPA : un algorithme libre et performant pour annoter et prioriser les SNV identifiés par NGS en stratégie de panel et d'exome total.

Auteurs :

Kevin Yauy (1), David Baux (1), Henri Pegeot (1), Charles Van Goethem (2), Charly Mathieu (1), Thomas Guignard (3), Raul Juntas Morales (1), Delphine Lacourt (1), Martin Krahn (4), Vilma Lehtokari (5), Gisèle Bonne (6), Sylvie Tuffery-Giraud (7), Michel Koenig (1, 7), Mireille Cossee (1, 7)

1. Laboratoire de Génétique Moléculaire, Institut Universitaire de Recherche Clinique, CHRU de Montpellier, Montpellier, France
2. Departement of Pathology, Hopital Arnaud de Villeneuve, CHRU de Montpellier, Montpellier, France
3. Unité de Génétique Chromosomique, Hopital Arnaud de Villeneuve, CHRU de Montpellier, Montpellier, France
4. GMGF INSERM-AMU UMRS910, Université d'Aix Marseille, Marseille, France
5. The Folkhalsan Institute of Genetics and the Department of Medical Genetics, Haartman Institute, University of Helsinki, Helsinki, Finlande
6. INSERM U974; Center of Research in Myology, Institut de Myologie, UPMC, Sorbonne Universités, Paris, France
7. Laboratoire de génétique des maladies rares, EA7402, Université de Montpellier, Montpellier, France

Mots clefs : Priorisation de variants, TTN, outils de prédiction in silico, NGS, bioinformatique

Résumé :

L'interprétation biologique de la quantité importante de données issues du NGS constitue aujourd'hui la principale difficulté du diagnostic en génétique moléculaire. Dans les cas des myopathies et dystrophies musculaires, un autre défi est l'interprétation des variants identifiés sur les grands gènes comme celui de la titine (TTN) car ils bénéficient que depuis peu d'un séquençage exhaustif de leur séquence codante et les outils classiques de prédictions sont actuellement peu performants.
Nous proposons un algorithme d'annotation et de priorisation de variants nommé Mobidic Prioritization Algorithm (MPA). MPA propose un score unique basé sur l'interprétation biologique de variants reportés dans ClinVar, des conséquences prédites sur la séquence codantes (variants tronquants non-sens et frameshift), des prédictions in silico de pathogénicité de variants faux-sens et d'atteinte de l'épissage pour prioriser les prédictions de pathogénicité de tout type de variants SNV. Nous avons validé notre approche en comparant la sensibilité et la spécificité de notre algorithme avec les outils de prédictions présents notamment dans dbNSFP, au travers un jeu de données de variants DYSF, DMD, LMNA, NEB et TTN extraits de bases de données locus spécifique (UMD), de publications et de l'Exome Aggregation Consortium.
MPA a obtenu le meilleur taux d'annotation pour tous les types de SNV. Comme MPA agrège les résultats de multiples outils, les inconvénients des prédicteurs isolés sont compensés et MPA améliore la sensibilité et la spécificité des prédictions. En comparaison à un algorithme comparable CADD, MPA présente une meilleure répartition des variants pathogènes vers les plus hauts rangs de priorisation. Nous proposons, pour l'interprétation biologique, une utilisation séquentielle de MPA, en débutant par les variants de plus haut score (avec une spécificité forte). En l'absence de variant candidats, l'analyse est poursuivi avec des variants de score décroissants (sensibilité plus élevée).
Intégré dans une interface unique comprenant les données de fréquence allélique de la population générale, les interprétations de ClinVar et d'autres bases de données telles que OMIM, cet algorithme de priorisation permet une interprétation optimisée et facilitée des variants tout en tenant compte du phénotype et des hypothèses de mode de transmission.
Nous partageons nos scripts et proposons une documentation de notre pipeline d'annotation et de priorisation de variants issu d'un VCF, libre et gratuit pour la communauté académique, validé et adapté pour les panels et le séquençage de l'exome via notre github https://github.com/mobidic/MPA.

P625 : Hydrocéphalie : manifestation rare dans le spectre phénotypique du Syndrome Simpson - Golabi - Behmel, à propos d'un cas

Auteurs :

Andreea Apetrei (1), Cindy Colson (1), Florence Villedieu (2), Nicolas Gruchy (1), Guillaume Benoist (3), Martine Raynaud (4), Marie-Laure Kottler (1), Marie-Pierre Moizard (4), Annick Toutain (4), Marion Gerard (1)

1. Génétique, CHU Clemenceau , CAEN, France
2. Réanimation Pédiatrique, CHU Côte de Nacre, CAEN, France
3. Gynécologie-Obstétrique, CHU Côte de Nacre, CAEN, France
4. Génétique, CHU Hôpital Bretonneau, TOURS, France

Mots clefs : Syndrome Simpson Golabi Behmel, GPC3, hydrocéphalie, ventriculomegalie

Résumé :

Le syndrome de Simpson-Golabi-Behmel (SGB) est récessif lié à l'X et associe une avance staturo-pondérale, de possibles malformations cardiaques et diaphragmatiques, des éléments morphologiques, un déficit intellectuel mineur/modéré, et un risque tumoral. Le gène responsable est le gène *GPC3* localisé en Xq26. Les anomalies du système nerveux central sont rarement décrites dans les cas publiés.
Nous rapportons un cas de SGB diagnostiqué en prénatal devant l'association d'une hernie diaphragmatique avec macrosomie et d'un hydramnios, faisant suite à une nuque au 95ème percentile, chez un fœtus de sexe masculin. Le diagnostic a été confirmé par une analyse du gène *GPC3* qui a retrouvé une délétion intragénique de l'exon 7 du gène *GPC3* en anténatal.
A la naissance, le patient a été opéré de sa hernie diaphragmatique, qui s'est compliqué de bronchodysplasie et de troubles de l'oralité, nécessitant une ventilation invasive sur trachéotomie et une gastrostomie. L'examen clinique retrouve la macrocéphalie, avec traits épais, épicanthus, prognathisme, macroglossie, racine du nez large, nez court et narines antéversées. Il existe un mamelon surnuméraire, ainsi qu'une hypotonie globale.
Entre l'âge d'un mois et demi et 5 mois et demi, l'enfant a présenté une croissance rapide de son périmètre crânien, > 97ème percentile, sans signes cliniques d'hypertension intra-crânienne, en dehors d'une fontanelle bombante et pulsatile. L'IRM cérébrale confirme une hydrocéphalie, traitée par dérivation ventriculo-péritonéale à l'âge de 8 mois.
L'hydrocéphalie reste rare dans le SGB, cette manifestation aurait été décrite à 3 reprises dans la littérature. En 1998, Huber et al. ont décrit un cas, ayant une hydrocéphalie et une déficience intellectuelle, comportant une délétion large emportant les exons 7 et 8 du gène *GPC3* et le gène *GPC4* adjacent. En 2006, un cas a été décrit par Young et al, avec hydrocéphalie, épilepsie et déficience intellectuelle, et une délétion de l'exon 1 du gène *GPC3*. En 2008, Pénisson-Besnier et al ont rapporté un patient ayant une agénésie partielle du corps calleux, une agénésie du septum pellucidum et une dilatation ventriculaire bilatérale avec un PC à+3DS, et présentant une mutation faux-sens dans l'exon 8 du gène *GPC3*.
En conclusion, l'hydrocéphalie est une manifestation rarement retrouvée dans le SGB. La mise en évidence d'une délétion intragénique du gène *GPC3* chez notre patient renforce l'hypothèse que l'hydrocéphalie pourrait faire partie du spectre phénotypique du SGB.

Golabi Caen Nantes 2018.docx

P627 : La cohesinopathie par néomutation de RAD21 : un phénotype chevauchant les chromatinopathies cliniquement définies

Auteurs :

Marjolaine Willems (1), Ange-Line Bruel (2), Natacha Lehman (3), Guilaine Boursier (4), Laurence Faivre (5), David Geneviève (3), Yannis Duffourd (2), Paul Kuentz (6)

1. département de Génétique Médicale, Service de Génétique Médicale, hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
2. Laboratoire de Biologie Moléculaire, CHU de Dijon, Dijon, France
3. Département de Génétique Médicale, Hôpital Arnaud de Villeneuve, CHU de Montpellier, Montpellier, France
4. Laboratoire de Biologie Moléculaire, Hôpital Arnaud de Villeneuve, CHU de Montpellier, Montpellier, France
5. Département de Génétique Médicale, CHU de Dijon, Dijon, France
6. Laboratoire de Biologie Moléculaire, CHU de Besançon, Besancon, France

Mots clefs : RAD21 ; KBG ; Cornelia de Lange ; cohesinopathies

Résumé :

Introduction : Le maintien de la cohésion des chromatides sœurs pendant la réplication jusqu'à leur séparation en anaphase requiert l'intégrité d'un complexe appelé cohésine contenant au moins 4 protéines de structure, SMC1, SMC3, STAG et RAD21, et des éléments régulateurs, dont NIPBL et ESCO2. Le complexe est également impliqué dans la régulation de la transcription et la réparation des cassures double-brin de l'ADN. Les cohésinopathies incluent notamment le syndrome de Cornelia-de-Lange et le syndrome de Roberts.
Cas rapporté : Ce patient non consanguin présentait à la naissance une microcéphalie (à 40 SA, PN 2930g, TN 48 cm, PCN 31 cm), une atrésie choanale unilatérale, et une fossette sacro-coccygienne nécessitant une intervention chirurgicale. Il n'a pas présenté de retard moteur, mais un retard de langage ainsi que des difficultés d'apprentissage, de compréhension et un déficit attentionnel responsables de difficultés scolaires motivant un redoublement avec une adaptation du programme mais un maintien en cursu s classique. A l'âge de 11 ans, il présente une hypotrophie relative avec un poids à -2DS, une taille à -1.5 DS (taille cible parentale à +0.5DS), une microcéphalie à -4DS, un IMC au 3e percentile.Il a des sourcils épais et arqués, des incisives supérieures volumineuses, des malpositions dentaires, une clinodactylie unilatérale du 5e doigt, une syndactylie des 2e-3e orteils, une hyperlaxité avec des genu recurvatum. Les réflexes sont vifs. La première hypothèse diagnostique est celle d'un syndrome KBG. La CGH-array et l'analyse d'un panel de 50 gènes impliqués dans les chromatinopathies incluant *ANKRD11* n'a pas révélé d'anomalie. Le séquençage de l'exome a permis d'identifier une mutation *de novo* c.208A>T ; pLys70* du gène *RAD21*.
Discussion : Récemment, Deadorff et al. Et Minor et al. ont rapporté neuf patients présentant une cohésinopathie ou un syndrome de Cornelia-de-Lange-like en lien avec une mutation ou une délétion complète à l'état hétérozygote de *RAD21*, de novo dans 8 cas. Les patients présentaient une microcéphalie pour 8/9, un retard de croissance pré et post-natal pour 7/9, des anomalies des sourcils (épais, synophris, arqués) pour 9/9, un trouble neuro-développemental pour 7/9 et une hyperpilosité pour 3/9. Le diagnostic clinique de syndrome de Cornelia de Lange était évoqué pour un patient. Les éléments morphologiques pouvant orienter vers ce spectre diagnostique sont peu spécifiques et incluent le retard statural, la microcéphalie, l'hyperpilosité, des troubles neurodéveloppementaux de sévérité variable. L'utilisation du séquençage nouvelle génération a permis d'une part d'identifier de nouveaux gènes impliqués dans les cohésinopathies, et d'autre part de confirmer l'expressivité variable de ce type de pathologies avec des phénotypes chevauchant les syndromes précédemment cliniquement décrits dont la physiopathologie implique le remodelage de la chromatine, comme le syndrome de Cornelia de Lange ou le syndrome KBG.

P628 : VarAFT : Un système d'annotation et de filtration pour les données issues de séquençage haut débit.

Auteurs :

Jean-Pierre Desvignes (1), Marc Bartoli (1), Valérie Delague (1), Martin Krahn (1, 2), Christophe Béroud (3, 2), David Salgado (4)

1. GMGF UMR_S 910, Aix Marseille Université, MARSEILLE, France
2. Département de Génétique et de biologie Cellulaire, APHM, MARSEILLE, France
3. GMGF UMR_S 910, Aix Marseille University AMU, MARSEILLE, France
4. GMGF UMR_S 910, INSERM, MARSEILLE, France

Mots clefs : Mutations, Génétique, NGS, Annotation, Filtration, Logiciel, Exome, Génome, Panel

Résumé :

Le séquençage haut débit (NGS) produit des centaines de millions de séquences par exome ou genome. L'analyse des données brutes jusqu'à l'identification des mutations n'est plus un frein mais l'étape d'annotation et de filtration reste encore délicate et cruciale dans l'identification des mutations candidates. Pour répondre à ce défi différents systèmes ont été développés ces dernières années mais aucun ne répond complètement aux besoins des utilisateurs tout en assurant la confidentialité des données.
Dans ce contexte nous avons développé VarAFT (Variant Annotation and Filter Tool – http://varaft.eu) qui est un logiciel multiplateforme écrit en JAVA permettant l'annotation, l'analyse et la filtration des mutations ainsi que l'analyse de couverture.
Le premier module permet l'annotation de fichiers VCF/gVCF grâce aux système ANNOVAR implémenté et récupère les prédictions d'UMD-Predictor (http://umd-predictor.eu) et de Human Splicing Finder (HSF - http://umd.be.hsf3/).
Le second module permet de combiner les fichiers annotés. Il peut être aussi bien utilisé dans une analyse familiale quel que soit le mode de transmission, que dans une analyse de cohorte ou que dans l'étude de cancers. L'analyse peut être préalablement restreinte grâce à l'utilisation d'une liste de gènes. Ce module offre de nombreuses options de filtration permettant de réduire le nombre de mutations. Ces filtres utilisent les informations sur la nature des variants ; la fréquence d'observation (gnomAD,1000 génomes …) ; les prédictions de différents outils (SIFT, PolyPhen, CADD, UMD-Predictor …) ; des données liées au gène (OMIM, HPO, Gene Ontology, KEGG, Reactome, PID, GTeX) ; une base de données locale de mutations créée par l'utilisateur. Pour faciliter la filtration de gros fichiers ou de nombreux fichiers, un système de traitement automatisé utilisant des filtres prédéfinis par l'utilisateur a été implémenté.
Enfin le troisième module permet l'évaluation de la qualité de l'expérience. Il fournit la couverture de chaque transcrit, exon ou base grâce à des tableaux et graphiques dynamiques qui peuvent être exportés et inclus dans des rapports.
VarAFT est aujourd'hui très utilisé tant pour la recherche que pour le diagnostic (environ 400 utilisateurs de 37 pays). Il a ainsi permis l'identification de nouveaux gènes impliqués dans différentes pathologies génétiques (Jallades et al, Saultier et al, Elouej et al, Marquet et al, Cerino et al (2017), Galant et al, Lacoste et al, Miltgen et al (2016), Rapetti-Mauss et al 2015, Bartoli et al 2014).
VarAFT a également servi de modèle pour la création de la plateforme RD-Connect (Thompson et al 2014).
En conclusion VarAFT est un l'outil d'annotation et de filtration multiplateforme le plus complet accessible aux non bioinformaticiens et permet en peu d'étapes d'obtenir une liste réduite de mutations candidates facilitant ainsi la recherche et le diagnostic. Il peut être utilisé pour des panels de gènes, des exomes ou des génomes.

VarAFT_Assises_Génétique.docx

P629 : Syndrome d'Oliver-McFarlane : confirmation de l'implication de PNPLA6 et suivi de plus de 30 ans chez deux frères

Auteurs :

Guillaume Jedraszak (1), Nicolas de Roux (2), Florence Jobic (3), Rachel Desailloud (4), Hélène Bony (5), Solange Milazzo (6), Michèle Mathieu-Dramard (3), Gilles Morin (3)

1. Laboratoire de Cytogénétique et Biologie de la Reproduction, CHU Amiens, Amiens, France
2. Laboratoire de Biochimie-Hormonologie. , Université Paris Diderot, Hopital Robert Debré, Paris, France
3. Service de Génétique Clinique et Oncogénétique, CHU Amiens, Amiens, France
4. Endocrinologie, Maladies Métaboliques et Nutrition, CHU Amiens, Amiens, France
5. Pédiatrie médicale, CHU Amiens, Amiens, France
6. Ophtalmologie, CHU Amiens, Amiens, France

Mots clefs : Mots clés : syndrome d'Oliver-McFarlane, PNPLA6, hypopituitarisme, trichomégalie, dégénérescence chorio-rétinienne, ataxie cérébelleuse, neuropathie périphérique, syndrome de Boucher-Neuhauser, syndrome de Laurence-Moon, syndrome de Gordon-Holmes

Résumé :

Le syndrome d'Oliver-McFarlane (OMIM 275400) (SOMF), décrit pour la première fois en 1965, est une pathologie très rare associant un déficit multiple et congénital en hormones hypophysaires (GH, TSH, gonadotropine), une trichomégalie et une dégénérescence chorio-rétinienne précoce. Si le déficit en hormone de croissance et l'hypothyroïdie ne sont pas traités, il en découle une petite taille et une déficience intellectuelle. De nombreux patients souffrent d'un hypogonadisme, soit congénital, soit se révélant à la puberté, ayant des répercussions sur les capacités reproductives des patients. La moitié des patients connaissent des troubles neurologiques progressifs à type d'ataxie cérébelleuse, de neuropathie périphérique ou de paraplégie spastique.
Nous rapportons l'observation de deux frères suspects de SOMF depuis l'enfance (Mathieu et al, 1991). Tous deux souffraient d'une alopécie temporale et occipitale, de cils et sourcils particulièrement longs (trichomégalie), d'une hypoplasie de l'émail dentaire, d'une dégénérescence chorio-rétinienne diffuse précoce responsable d'une malvoyance, d'une neuropathie périphérique, d'un hypogonadisme hypogonadotrope, d'un déficit en GH avec retard statural. Avec le temps, les deux frères ont présenté une ataxie cérébelleuse, avec à l'IRM l'existence d'une atrophie cérébelleuse associée ou non à des anomalies des régions sous-thalamiques. L'analyse moléculaire de *PNPLA6* (NM_006702) a permis d'identifier chez ces patients deux mutations à l'état hétérozygote, l'une faux-sens [c.3241G > A ; p.(Gly1081Arg)] et l'autre non-sens [c.3088C > T ; p.(Gln1030*)], confirmant le diagnostic de SOMF.
Depuis 2015, des mutations bialléliques du gène *PNPLA6* ont été identifiées à l'origine du SOMF, confirmant la transmission autosomique récessive supposée depuis de nombreuses années (Hufnagel et al, 2015). Des mutations bialléliques de *PNPLA6* ont également été identifiées dans trois autres pathologies avec lesquelles le SOMF partage une ressemblance phénotypique indéniable : Le syndrome de Boucher-Neuhauser (OMIM 215470) associe une ataxie spinorérébelleuse, un hypogonadisme hypogonadotrope et une atteinte visuelle par dystrophie rétinienne. Le syndrome de Laurence Moon (OMIM 245800) comporte une ataxie de survenue précoce, une atteinte chorio-rétinienne et un dysfonctionnement hypophysaire. Le syndrome de Gordon-Holmes (OMIM 212840) se caractérise par un syndrome neurodégénératif de l'adulte avec déclin cognitif, démence, ataxie ou syndrome choréique et hypogonadisme hypogonadotrope. Des mutations de *PNPLA6* sont aussi responsables d'une forme autosomique récessive de paraplégie spastique (OMIM 612020). Désormais le terme de « *PNPLA6*-related disorders » est utilisé pour désigner ce groupe de maladies.

P630 : Syndrome Cat-Eye : a propos d'une série de 53 observations

Auteurs :

Florence Jobic (1), Guillaume Jedraszak (2), Henri Copin (2), Noémie Celton (3), Tania Dery (3), Aline Receveur (4), Thomas Liehr (5), Gilles Morin (1)

1. Génétique Clinique, Centre Hospitalier Universitaire Amiens-Picardie, Amiens , France
2. Médecine et Biologie de la Reproduction - Cytogénétique, Centre Hospitalier Universitaire Amiens-Picardie, Amiens , France
3. Médecine et Biologie de la Reproduction - Cytogénétique, Centre Hospitalier Universitaire Amiens-Picardie, Amiens, France
4. Laboratoire de cytogénétique, Hôpital Antoine-Béclère, APHP, Paris, France
5. Institute of Human Genetics, Jena University Hospital, Friedrich Schiller University, Jena, Allemagne

Mots clefs : Anomalie chromosomique, Marqueur chromosomique surnuméraire, Caryotype, FISH (Fluorescence In-Situ Hybridization), CGH-array (Comparative Genomic Hybridization), Syndrome Cat-Eye, Colobome, Syndrome Poly-Malformatif, Retard des acquisitions

Résumé :

Le cat eye syndrome (CES - OMIM 115462) est une maladie génétique rare, dû à la présence sur le caryotype d'un petit marqueur chromosomique (sSMC) dérivé du chromosome 22 et aboutissant à une tétrasomie partielle 22p-22q11.21.
Le diagnostic clinique repose sur un trépied comprenant des malformations (pré)auriculaires, une atrésie anale et un colobome irien. Cependant, le phénotype clinique peut s'avérer extrêmement variable et l'on retrouve fréquemment associées des malformations cardiaques, urogénitales, un retard de croissance et une déficience intellectuelle.
Ce travail étudie et compare aux données de la littérature 53 observations de patients présentant un CES. Il s'agit de la plus grande cohorte de patients de CES rapportée à ce jour (à l'exclusion des méta-analyses).
Sur le plan phénotypique, nous confirmons la fréquence élevée des anomalies pré-auriculaires (81%). Mais les anomalies anorectales (44%) et le colobome (35%) sont moins fréquents que prévu et absents chez plus de la moitié des patients. En outre, 35% des patients présentent un seul des trois signes principaux et 9% n'en présentent aucun. Ces données remettent en question l'importance de la triade sur laquelle se base le diagnostic clinique. Par ailleurs, les malformations cardiaques (51%) et la déficience intellectuelle (47%) sont des anomalies plus fréquentes que deux des trois signes de la triade. Les autres anomalies récurrentes sont les anomalies génito-urinaires (32%), le retard de croissance (24%) et le déficit en hormone de croissance (22%).
Sur le plan cytogénétique, nous avons mis en évidence une forte prévalence des cas en mosaïque (40%). Nous soulignons également la fréquence élevée et inattendue de la transmission parentale de ce sSMC (23%). Le plus souvent, le parent émetteur est pauci(a)-symptomatique et porte le marqueur en mosaïque à un taux très faible (< 10%) ce qui rend difficile la détection sans une analyse poussées en FISH.
Ces données pourraient modifier de manière significative le conseil génétique.

P631 : Expansion du spectre clinique de SALL1 : à propos d'une forme familiale de cardiopathie syndromique.

Auteurs :

sarah guterman (1), bérénice herve (2), emmanuelle motte (3), delphine fauvert (2), henry-Jean garchon (4), françois viallard (2), Rodolphe DARD (1)

1. Génétique médicale, CHI Poissy, POISSY, France
2. Cytogénétique, CHI Poissy, POISSY, France
3. réanimation néonatale, CHI Poissy, POISSY, France
4. Plateforme de génétique, UVSQ, Montigny-le-bretonneux, France

Mots clefs : SALL1, Exome, NGS, Cardiopathie, Polydactylie

Résumé :

SALL1 (SAL-LIKE 1, OMIM 602218) est un gène homéotique localisé en 16p12.1. Particulièrement conservé au cours de l'évolution, il s'exprime dans de nombreux tissus lors du développement embryonnaire et fœtal. La protéine codée par ce gène comporte un domaine en doigt de Zinc, laissant penser qu'il s'agit d'un facteur de transcription.
Les mutations de *SALL1* sont responsables du syndrome de Townes-Brocks (TBS, OMIM 107480). Ce syndrome autosomique dominant est défini par l'association d'une atteinte du premier rayon (pouce triphalangé, polydactylie préaxiale, hypoplasie), d'une imperforation anale et d'une dysplasie auriculaire (hélix trop ourlée, appendices préauriculaires, surdité). Sont également fréquemment retrouvés une insuffisance rénale, une insuffisance cardiaque congénitale, des malformations des pieds et des orteils, de l'arbre urinaire, des organes génitaux. Des malformations rénales, oculaires, digestives, du système nerveux central et cardiaques (communication interauriculaire ou interventriculaire, tétralogie de Fallot, tronc artériel commun létal, atrésie de la valve pulmonaire et persistance du canal artériel) sont également décrites mais plus rares.
Plus de 70 mutations ont été décrites dans *SALL1* et responsables du TBS. Il s'agit surtout de mutations non-sens, de décalage du cadre de lecture ou de larges délétions. Elles sont concentrées en un hotspot dans l'exon 2.
Nous rapportons ici une famille présentant un phénotype différent du TBS, et associant une polydactylie postaxiale bilatérale des main et une communication auriculo-ventriculaire, de transmission autosomique dominante. Nous avons mis en évidence par approche d'exome un variant faux-sens dans l'exon 3 de *SALL1*, non décrit comme polymorphisme et prédit *in silico* comme délétère. L'étude de la ségrégation familiale est en cours.
Le pleiotropisme de *SALL1,* démontré par la variété des atteintes décrites dans le TBS, et le fait que notre famille diffère phénotypiquement et moléculairement sont des arguments important pour penser que ce variant est impliqué dans le phénotype observé. Le *« reverse phenotyping»* est une démarche intéressante mais prudente lors de la réinterprétation des séquences en NGS par le clinicien pour revisiter l'expression phénotypique d'un gène bien connu.

P632 : Anomalies réductionnelles des extrémités chez trois patients atteints de syndrome Kabuki : coïncidence ou symptôme très rare.

Auteurs :

Gabriella Vera (1), Marion Gérard (2), Alice Goldenberg (1), Anne Guimier (3), Thierry Blanc (4), Stéphanie Torre (4), Tristan Hazelzet (5), Isabelle Durand (5), Valérie Benoit (6), Guilaine Boursier (7), Valérie Cormier-Daire (3), David Genevieve (7), Thierry Frebourg (1), Anne-Marie Guerrot (1)

1. Département de Génétique, Centre de Référence Anomalies du Développement et syndromes Malformatifs, CHU de Rouen et Inserm U1245, UNIROUEN, Normandie Univ, Centre Normand de Génomique et de Médecine Personnalisée, Rouen, France
2. Service de Génétique, CHU de Caen - Hôpital Clémenceau, Caen, France
3. Service de Génétique Médicale, CHU Paris - Hôpital Necker-Enfants Malades, AP-HP, Paris, France
4. Service de Néonatologie, CHU de Rouen, Rouen, France
5. Département de Cardiologie Congénitale, CHU de Rouen, Rouen, France
6. Centre de Génétique Humaine, Institut de Pathologie et de Génétique, Gosselies, Belgique
7. Département de Génétique Médicale, Maladies Rares et Médecine Personnalisée, Centre de Référence Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs, Plateforme Recherche de Microremaniements Chromosomiques, Hôpital Arnaud de Villeneuve, CHU de Montpellier, Faculté de Médecine Montpellier-Nîmes, Université de Montpellier, Montpellier, France

Mots clefs : Syndrome Kabuki, malformation congénitale, anomalie réductionnellle, extrémités

Résumé :

Le Syndrome Kabuki (KS OMIM 147920 et 300867) est une étiologie bien décrite de déficience intellectuelle syndromique associant des caractères morphologiques reconnaissables et des malformations congénitales. Les altérations de deux gènes impliqués dans le Syndrome Kabuki, *KMT2D* et *KDM6A,* expliquent respectivement 60% et 10% des cas. Bien que le diagnostic puisse être fait sur des critères cliniques et notamment morphologiques, il demeure compliqué de par la variabilité interindividuelle et la multiplicité des organes pouvant être atteints. Au fil des années, la description clinique et moléculaire de plusieurs cohortes de patients a permis d'élargir le spectre phénotypique et de mieux identifier les signes cliniques spécifiques. Des signes atypiques ou uniques ont été rapportés chez plusieurs patients pour qui la suspicion de Syndrome Kabuki a été confirmée par l'étude moléculaire.
Nous rapportons les cas de trois patients présentant un syndrome Kabuki et des anomalies des membres et des extrémités jusqu'alors non décrites dans ce syndrome. Pour deux d'entre eux, le diagnostic de Syndrome Kabuki a été confirmé sur des bases moléculaires et pour le troisième l'analyse est en cours. Chez le premier patient il existait une quasi-absence de 4ème orteil des deux pieds. Chez la deuxième patiente il existait aussi une anomalie réductionnelle du 4ème orteil à gauche avec une absence de la 3ème phalange et une absence d'ongle. Chez la troisième patiente, il s'agissait d'une anomalie réductionnelle transverse sévère du membre supérieur droit avec agénésie de l'avant-bras droit.
A notre connaissance, des anomalies réductionnelles des extrémités n'ont pas été décrites à ce jour dans le Syndrome Kabuki. Par ailleurs, l'atteinte du 4ème rayon chez les deux premiers patients nous a interpelés. En effet, Michot et al.(1) ont décrit l'existence d'une absence ou d'une atténuation de pli interphalangien distal plus fréquente sur le 4ème rayon. Pour aller plus loin, nous pourrions colliger des cas similaires et analyser des gènes impliqués dans les anomalies réductionnelles ou, pieds et mains fendues. Enfin, nous discutons de la place de ces atypies dans la démarche diagnostique et de la difficile nuance entre, variabilité d'expression, et étendue du spectre phénotypique.
(1) Michot C, Corsini C, Sanlaville D, Baumann C, Toutain A, Philip N, et al. Finger creases lend a hand in Kabuki syndrome. Eur J Med Genet. 2013 Oct;56(10):556–60.

Vera et al abstract.docx

P633 : ART-DeCo : outil pour la détection et la caractérisation des contaminations des échantillons d'ADN lors des analyses génétiques par séquençage haut-débit en routine diagnostique

Auteurs :

Alice FIEVET (1, 2), Virginie BERNARD (3), Henrique TENREIRO (4), Catherine DEHAINAULT (4), Elodie GIRARD (5), Vivien DESHAIES (6), Philippe HUPE (6), Olivier DELATTRE (7, 2), Marc-Henri STERN (1, 2), Dominique STOPPA LYONNET (8), Lisa GOLMARD (4), Claude HOUDAYER (9, 2)

1. Laboratoire de génétique constitutionnelle, Institut Curie, PARIS 5EME ARRONDISSEMENT, France
2. INSERM U830, Institut Curie, PSL Research University, Institut de recherche, PARIS 5EME ARRONDISSEMENT, France
3. Institut Curie Genomics of Excellence (ICGex) platform, Institut Curie Research Center, PARIS 5EME ARRONDISSEMENT, France
4. Laboratoire de génétique constitutionnelle, Institut Curie, Paris, France
5. INSERM U900, Institut Curie, PSL Research University, Institut de recherche, Paris, France
6. INSERM U900, Institut Curie, PSL Research University, Institut de recherche, PARIS 5EME ARRONDISSEMENT, France
7. Laboratoire de génétique, Institut Curie, PARIS 5EME ARRONDISSEMENT, France
8. Service de génétique, Université Paris Descartes Sorbonne Paris Cité, INSERM U830, Institut Curie, Paris, France
9. Laboratoire de génétique constitutionnelle, Université Paris Descartes , Institut Curie, PARIS 5EME ARRONDISSEMENT, France

Mots clefs : détection, contamination, séquençage haut débit, constitutionnel, qualité

Résumé :

Le séquençage haut-débit (Next-Generation Sequencing, NGS) est désormais utilisé en routine pour les analyses génétiques constitutionnelles, permettant l'analyse d'un grand nombre d'échantillons en parallèle. Cependant, les contaminations inter-échantillons constituent un risque majeur pouvant impacter le résultat de l'analyse.
Afin de prévenir ce risque, nous avons développé ART-DeCo (*Allelic Ratio based Tool for Detection of Contamination*), un outil qui utilise les ratios alléliques des SNPs (Single Nucleotide Polymorphisms) séquencés avec les régions d'intérêts. En effet, lorsqu'un échantillon est contaminé par un ADN ayant un génotype différent pour un SNP, alors ce SNP apparait avec un ratio allélique inattendu pour un statut hétérozygote ou homozygote (pour l'allèle de référence ou pour l'allèle alternatif), c'est-à-dire hors des intervalles [0,25;0,75], [0;0,005[et]0,995;1] respectivement. Ces SNPs avec un ratio allélique inattendu sont utilisés par l'outil pour détecter les contaminations avec un premier test de dépistage, puis ils sont utilisés afin d'identifier et de quantifier le contaminant.
Après une phase d'optimisation, ART-DeCo a été appliqué sur 2222 échantillons d'ADN constitutionnel enrichis selon le protocole QXT (Agilent) puis séquencés de façon consécutive par séries de 32 sur un Nextseq 500 (Illumina). Le test de dépistage a été positif pour 191 échantillons. Dans 33 de ces cas (pourcentage de contamination de 1,3% à 29,2%), le contaminant a été identifié et provenait le plus souvent d'un puits adjacent sur la plaque d'échantillons. Trois autres cas présentaient un pourcentage de contamination élevé (38,1% à 49,6%) : 2 étaient dus à des erreurs d'index et 1 était dû à un mélange de 2 ADNs. De façon intéressante, un dernier échantillon fortement contaminé (23,2%) provenait d'un échantillon de salive d'un patient qui avait reçu une greffe de moelle osseuse. Ainsi, du fait de son génotype différent, ART-DeCo a permis d'identifier la présence de l'ADN du donneur comme contaminant. Pour finir, il n'y a pas eu d'identification de contaminant pour les 154 autres échantillons faiblement positifs (< 4% de contamination) au test de dépistage, ils ont été considéré comme de faux-positifs.
ART-DeCo est un outil facile d'utilisation qui identifie et caractérise les contaminations qui surviennent dans les étapes précédant le séquençage. Il peut être implémenté dans tous types de pipelines NGS, du panel de gènes aux analyses pan-génome. Il permet d'identifier les étapes délicates de la préparation de librairies pour le NGS entrainant une amélioration des pratiques ; ART-DeCo apparait comme une étape indispensable lors des procédures de contrôle qualité.

Résumé assises 2018 Fiévet A.docx

P634 : Devenir fonctionnel au long cours chez une mère et sa fille atteintes de Syndrome de Larsen autosomique dominant par une nouvelle mutation FLNB

Auteurs :

Pauline LE TANNO (1), Louis DAI (2), Sandrine MARLIN (3), Stephen ROBERTSON (4), Christelle THIBAULT-CARPENTIER (5), Mathieu JUNG (5), Emeline BOURGEOIS (6), Frédérique NUGUES (7), Marie JAEGER (2), Robert JUVIN (8), Bernard WUYAM (9), Dominique PERENNOU (2), Pierre-Simon JOUK (1), Klaus DIETERICH (10)

1. Génétique Médicale, CHU Grenoble Alpes, Grenoble, France
2. Rééducation Neurologique, CHU Grenoble Alpes, Grenoble, France
3. Génétique Médicale, Hôpital Necker Enfants Malades, paris, France
4. Paediatric Genetics, Dunedin School of Medicine, Dunedin, Nouvelle-Zélande
5. CNRS UMR7104 INSERM U964, IGBMC, Illkirch, France, strasbourg, France
6. Chirurgie orthopédique infantile, CHU Grenoble Alpes, Grenoble, France
7. Imagerie pédiatrique, CHU Grenoble Alpes, Grenoble, France
8. Rhumatologie, CHU Grenoble Alpes, Grenoble, France
9. Sport et Pathologies, CHU Grenoble Alpes, Grenoble, France
10. Univ. Grenoble Alpes, Grenoble Institut des Neurosciences, GIN, F--38000 Grenoble, France, CHU de Grenoble, F--38000 Grenoble, France, grenoble, France

Mots clefs : Arthrogryposis multiplex congenita, Larsen syndrome, FLNB gene, functional evaluation, long-term follow-up

Résumé :

Larsen syndrome is an autosomal dominant syndrome characterized by joint dislocations, typical dysmorphic facies, abnormality of digits, spine and foot malformations and other skeletal defects. It is caused by missense mutations in specific exons of *FLNB* gene. Clinical reports of patients with documented mutations in *FLNB* are still limited and long-term follow-up reports are rare since described patients are most of the time young children. In addition, there is no available information on functional outcomes of these patients. Here we report on two adult patients of a single family, a mother and her daughter, addressed for multidisciplinary evaluation, and for which a clinical diagnosis of Larsen syndrome had been established. We report clinical and management data from birth to adult age, obtaining a long-term hindsight that provides an overview of the disease course, covering several decades for the mother. They presented with typical features of the syndrome, but also symptoms that had been more rarely reported such as conductive deafness. Their clinical presentation illustrates intra-familial variability, the mother having the more severe form. Complete multidisciplinary functional assessment evidenced favorable outcomes even for the patient with the more severe presentation. In addition, we conducted genetic investigations and discovered a novel mutation in *FLNB* occurring in the classical region involved in Larsen syndrome.

Abstract_FLNB_LeTanno_Assises2018.docx

P635 : Atrésie de l'œsophage : étude rétrospective d'une série de 148 cas sur 10 ans

Auteurs :

Emmanuelle RANZA (1), Morgane LE GOUEZ (2), Naziha KHEN DUNLOP (3), Sylvie BEAUDOIN (3), Véronique PINGAULT (4), Valérie MALAN (4), Caroline MICHOT (4), Anne GUIMIER (4), Geneviève BAUJAT (4), Marlène RIO (4), Valérie CORMIER-DAIRE (4), Arnold MUNNICH (4), Stanislas LYONNET (4), Tania ATTIE-BITACH (4), Véronique ROUSSEAU (3), Jeanne AMIEL (4)

1. Service de Génétique, Institut Imagine, INSERM UMR1163 Hôpital Necker Enfants Malades (AP-HP), Paris, France
2. Service de Pédiatrie, Hôpital Necker-Enfants malades, Paris, France
3. Service de Chirurgie viscérale pédiatrique, Hôpital Necker-Enfants Malades (AP-HP), Paris, France
4. Service de Génétique, Institut Imagine, Hôpital Necker-Enfants Malades (AP-HP), Paris, France

Mots clefs : Atrésie de l'oeosphage, étude rétrospective, malformations associées

Résumé :

Le développement normal de l'œsophage reste très mal connu. La classification clinique, l'élucidation des mécanismes moléculaires et le pronostic des atrésies œsophagiennes (AO), posent de multiples défis. Alors que certains syndromes, dont le syndrome CHARGE, la dysostose mandibulofaciale de type Guion-Almeida, le syndrome de Feingold, la trisomie 18 et l'anémie de Fanconi sont à risque d'atrésie œsophagienne, la majorité des patients avec atrésie de l'œsophage n'a pas de diagnostic moléculaire, y compris lors d'association connue, de type VATER par exemple.
Nous avons repris l'évaluation clinique et moléculaire d'une cohorte de 148 cas d'atrésie de l'œsophage (139 nouveau-nés et 9 fœtus) pris en charge à l'Hôpital Necker-Enfants Malades sur une période de 10 ans (2005-2014) dans le but de répertorier les anomalies associées et les diagnostics syndromiques. La majorité des patients évalués après 2009 a bénéficié d'une CGH-array d'une résolution moyenne de 400 kb. Une AO a été suspectée en prénatal dans environ 17.5% des cas (26/148), sans différence notable entre les années 2005-2009 et 2010-2014.
Au total, nous avons identifié 52 cas d'atrésie œsophagienne isolée (AOi, 35%) et 96 cas associant d'autres anomalies (AO+, 65%). Cette dernière catégorie est subdivisée en : (1) AO+ syndromique en lien avec un syndrome reconnaissable (9/148, 6%, dont 3 patients avec anomalies chromosomiques – trisomie 21 (n=2) et microdélétion 2q34 (n=1) – et 6 patients avec syndromes monogéniques – syndrome CHARGE (n=3), dysostose mandibulofaciale de type Guion-Almeida (n=2) et anémie de Fanconi (n=1)) ; (2) AO+ sur association VATER ou VATER/OAV (22/148, 15%) ; (3) AO+ avec malformation(s) associée(s) (65/148, 44%), certaines de manière significative, notamment pour les malformations cardiaques, l'atrésie duodénale et la hernie diaphragmatique. Tous les fœtus présentaient des AO+ (anémie de Fanconi (n=1), VATER (n=2), diabète gestationnel (n=1), anomalie chromosomique (n=1) et syndrome polymalformatif sans diagnostic moléculaire (n=4)). Une patiente avec AO+ présente un syndrome Myhre avec mutation récurrente du gène *SMAD4* ; l'association n'a jamais été décrite et demande à être confirmée.
Nos données sont comparées à celles de la littérature ; on compte plus de patients classés AO+ dans notre série. Ceci peut être dû à un biais de recrutement de formes sévères à la Maternité et/ou en Néonatalogie ou, refléter la prise en charge pluridisciplinaire. Le pourcentage de diagnostics chromosomiques et monogéniques reste extrêmement faible.
Par ailleurs, nous proposons un algorithme diagnostique guidant les investigations cliniques et paracliniques en cas d'atrésie de l'œsophage. Nous soulignons l'importance d'une bonne classification phénotypique, qui permet de constituer des sous-groupes parmi les AO+ dans le but d'identifier de nouveaux gènes par séquençage d'exome.

P636 : Premier cas d'une adulte atteinte d'un syndrome de Timothy (LQT8), porteuse d'une nouvelle variation pathogène du gène CACNA1C.

Auteurs :

Yann Troadec (1), Adeline Busson (2), Antoine Leenhardt (3), Hervé Mittre (1), Véronique Fressart (4), Cindy Colson (1)

1. Service de génétique, CHU de Caen, Caen, France
2. Service de génétique, Hôpital Erasme, Bruxelles, Belgique
3. Service de cardiologie, Hôpital Xavier Bichat - Claude Bernard, Paris, France
4. Centre de génétique moléculaire et chromosomique, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France

Mots clefs : Syndrome de Timothy, Canalopathie, QT long, CACNA1C

Résumé :

Le syndrome de Timothy est une canalopathie rare (prévalence < 1/1 000 000) caractérisée par l'association d'un trouble du rythme cardiaque avec un QT long constant, s'exprimant par un risque de syncope et tachycardie ventriculaire, avec habituellement une syndactylie mains-pieds ainsi que de signes cliniques variables : malformations cardiaques, troubles neurodéveloppementaux, éléments dysmorphiques faciaux, une immunodéficience et une hypoglycémie intermittente. Il se transmet selon un mode autosomique dominant, secondaire à la variation canonique délétère faux sens de l'exon 8A, p.Gly406Arg, du gène CACNA1C, codant pour la sous-unité 1-alpha du canal calcique voltage dépendant cardiaque principal. Dans la majorité des cas, elle survient de novo et l'espérance de vie des patients atteints du syndrome de Timothy classique est de 2,5 ans. Les autres variations causales raportées sont le variant faux sens p.Gly402Ser de l'exon 8 sans syndactylie décrite ainsi que les variants p.Ile1166Thr et p.Ala1473Gly avec des phénotypes variables du spectre clinique Timothy-like. D'autres variations pathogènes de CACNA1C ont également été décrites mais associées à un QT long isolé. Nous rapportons le cas atypique d'une patiente adulte atteinte d'un syndrome de Timothy porteuse d'une variation pathogène faux sens p.Glu407Ala de l'exon 9 du gène CACNA1C de survenue de novo, non décrite jusqu'à ce jour.

P637 : Impact de la norme ISO-15189 sur la structuration des analyses bioinformatiques en Oncogénétique

Auteurs :

Quentin Da Costa (1), Tetsuro Noguchi (1), Audrey Remenieras (1), Violaine Bourdon/Hugenin Virchaux (1), Cornel Popovici (1), Ghislain Bidaut (1), Hagay Sobol (1)

1. Laboratoire d'Oncogénétique Moléculaire, Institut Paoli-Calmettes, Marseille, France

Mots clefs : Bioinformatique, NGS, détection de variants, Norme ISO 15189, oncogénétique

Résumé :

Pour faire face à l'accroissement des volumes (+ 15% par an), de la complexité (diversification des panels de gènes) et de la réduction des délais d'analyse, le NGS a supplanté dans de nombreuses situations la méthode de séquençage Sanger qui cependant reste le gold standard. L'accréditation de cette approche, en particulier d'un point de vue bioinformatique pose de nouveaux défis. Nous présentons l'expérience du Laboratoire d'Oncogénétique Moléculaire (LOGM) de l'Institut Paoli-Calmettes (IPC), dans le cadre des analyses constitutionnelles et tumorales.
La mise en place du NGS entraîne d'importants besoins en méthodes bioinformatiques. Ce poster expose la mise en place d'une **structure d'analyse bioinformatique à double pipeline** au LOGM (IPC), démarrant à la sortie du séquenceur (fichiers *.fastq) et aboutissant aux tableaux des variants annotés et à leur stockage.
La norme encadrant les activités des laboratoires de biologie médicale ISO-15189 a pour but d'assurer la fiabilité des processus mis en place, la traçabilité, et l'amélioration constante des processus.
Dans le cadre de la détection de variants en Oncogénétique, la fiabilité des résultats est constituée par :
1) La certitude de l'absence de variant en cas de résultat négatif ;
2) La certitude de l'existence du variant en cas de résultat positif.
1) Pour répondre au premier cas, une double détection des variants, très appréciée des auditeurs Cofrac, a été mise en place. En effet, nous faisons fonctionner en parallèle deux programmes : Sophia DDM (Sophia Genetics) et CLC Biomedical Genomics Workbench (Qiagen).
Les variants détectés par les deux pipelines sont comparés, intégrés et formatés dans un rapport Excel par des scripts (Python) permettant le développement dans un environnement Windows et leur utilisation par l'ensemble du personnel du laboratoire, avec les sécurisations requises..
2) **Le seuil minimal de détection** pour l'analyse des tissus fixés est difficile à définir. Il n'existe ni référence absolue, ni argument irréfutable. Pourtant, il s'agit d'un élément essentiel pour le dossier de validation de méthode.
En tenant compte de cela, dans le deuxième cas, dans le cadre des analyses d'ADN tumoral issu de tissu fixé, nous avons déterminé notre seuil minimal de fréquence des variants en modélisant la distribution des fréquences de 12 000 variants de notre laboratoire. Cela nous permet de nous abstenir d'une sélection arbitraire du seuil.
De plus, nous développons une base de données qualité (SeQual, sequencing quality), permettant l'analyse automatisée des données de séquençage et leur stockage dans une base de données. Une interface accessible sur navigateur web permettra de tracer les variables de contrôle qualité sur un intervalle de temps donné, permettant l'identification de dysfonctionnements sur le long terme. L'ensemble des variants détectés et annotés par le LOGM est stocké dans cette même base, ce qui en fait un outil exhaustif pour tout laboratoire d'Oncogénétique.

Da_Costa_et_al-Assises_Genomique_2018_Final.pdf

P638 : Etude comparative du phénotype comportemental et de la socialisation dans la microdélétion 22q11.2 et dans le syndrome de Williams et Beuren : résultats de l'étude CNSA.

Auteurs :

Massimiliano Rossi (1, 2), Caroline Demily (3), Julien Plasse (4), Caroline Rigard (3), Celine Dampfhoffer (5), Jennifer Gallard (6), Sophie Chancenotte (7), Laurence Faivre (7), Natacha Lehman (8), David Geneviève (8), Coralie Rastel (9), Delphine Heron (9), Emmanuelle Taupiac (10), Didier Lacombe (10), Sylvie Manouvrier (11), Myriam Mikaty (12), Sylvie Odent (12), Odile Perret (13), Nicole Philip (14), Nicolas Franck (4), Patrick Edery (1, 15), Alain Verloes (6)

1. Service de Génétique, Centre de Référence Anomalies du Développement, Hospices Civils de Lyon, Bron, France
2. Centre de Recherche en Neuroscience de Lyon, Inserm U1028, UMR 5292, Université Claude Bernard, Bron , France
3. Centre de Référence GénoPsy, Service Hospitalo-Universitaire, CRMR Maladies Rares à Expression Psychiatrique, CH Le Vinatier, Bron, France
4. Centre ressource de réhabilitation psychosociale et de remédiation cognitive, CH Le Vinatier & Université Claude Bernard Lyon 1., Bron, France
5. Filière de Santé AnDDI-Rares, Hospices Civils de Lyon, Bron, France
6. Département de génétique et Centre de Référence Anomalies du Développement, Hôpital Robert Debré, APHP, Paris, France
7. Service de Génétique et Centre de Référence Anomalies du Développement, Hôpital d'Enfants, CHU Dijon, Dijon, France
8. Département de génétique, maladies rares et médecine personnalisée, Centre de référence maladies rares SORO, Inserm U1183, Université Montpellier, CHU Montpellier, Montpellier, France
9. Département de Génétique et Centre de Référence Déficiences Intellectuelles de Causes Rares, Hôpital La Pitié Salpêtrière, APHP, Paris, France
10. Service de Génétique Médicale et Centre de Référence Anomalies du Développement, GH Pellegrin, CHU Bordeaux, Bordeaux, France
11. Clinique de Génétique Médicale et Centre de Référence Anomalies du Développement, Hôpital Jeanne de Flandre, CHRU Lille, Lille, France
12. Service de Génétique Clinique et Centre de Référence Anomalies du Développement, Hôpital Sud, CHU Rennes, Rennes, France
13. Pôle de psychiatrie, Hôpital Sainte Marguerite, Assistance Publique Hôpitaux de Marseille, Marseille, France
14. Département de Génétique Médicale et Centre de Référence Anomalies du Développement, Hôpital de la Timone, Assistance Publique Hôpitaux de Marseille, Marseille, France
15. Centre de Recherche en Neuroscience de Lyon, Inserm U1028, UMR 5292, Université Claude Bernard, Bron, France

Mots clefs : microdélétion 22q11, syndrome de DiGeorge, syndrome vélo-cardio-facial, microdélétion 7q11.23, syndrome de Williams et Beuren, CNSA

Résumé :

Une enquête nationale sur l'évaluation de la qualité de la prise en charge médicale et socio-éducative des patients porteurs d'anomalies chromosomiques récurrentes a été réalisée en 2011-2012 par la Fédération française des Centres de référence Labellisés des Anomalies du Développement (FeCLAD), grâce à un financement de la Caisse Nationale de Solidarité pour l'Autonomie (CNSA). Un total de 695 patients a été inclus.
Nous avons analysé les données concernant la microdélétion 22q11.2 (22q11.2DS, 127 patients) et le syndrome de Williams et Beuren (WB, 57 patients), appariés en âge (p=0.405) et en sexe (P=0.571), dans les domaines du comportement, de la communication, de l'autonomie et de la socialisation (échelle de Vineland, test de Conners, Child Behaviour Check List/CBCL, analyse statistique par test de Wilcoxon-Mann Whitney).
Afin de limiter les biais inhérents au niveau cognitif général dans l'analyse des résultats, nous avons décidé d'apparier les 2 populations en fonction de la variable QIT. Les deux groupes (22q11.2DS vs. WB) ont donc été appariés (n=43 dans les deux groupes, 22q11.2DS QIT moyen= 55.86 ; WB QIT moyen= 52.44) et restaient comparables en âge et en sexe (respectivement p=0.75 et p=0.78).
Le groupe WB présentait des troubles de la socialisation et de l'autonomie significativement plus marqués que le groupe 22q11.2DS (échelle de Vineland, resp. p=0.042 et p=0.012). De même, l'hyperactivité et les troubles des apprentissages étaient significatifs dans le groupe WB (Test de Conners, p=0.004 ; p=0.05). Le profil comportemental renfermé et déprimé était plus marqué dans le groupe 22q11.2DS (CBCL, p=0.001) alors que le groupe WB présentait un profil de compétences et d'activités plus déficitaires (CBCL, p=0.024 et 0.016).
Alors que les patients WB sont décrits dans la littérature comme « hypersociaux », cette étude révèle au contraire un handicap social et un manque d'autonomie inhérents au syndrome. Un profil dépressif dans le 22q11.2DS est également documenté ici. Au total, les particularités comportementales sont différentes qualitativement et quantitativement dans les deux groupes de patients 22q11.2DS et WB, appariés pour le niveau cognitif global.

P639 : HIPBI-RD : Harmoniser l'information phénomique pour une meilleure interopérabilité dans le domaine des maladies rares.

Auteurs :

Halima Lourghi (1), Bruno Donadille (2), Sebastian Köhler (3), Peter Robinson (4), Michael Brudno (5), Helen Parkinson (6), Simon Jupp (6), Tudor Groza (7), Marc Hanauer (2), Valérie Lanneau (8), Charlotte Rodwell (2), Sylvie Maiella (2), Annie Olry (8), Ana Rath (2)

1. Orphanet - US14 , Inserm, Paris, France
2. Orphanet - US14, Inserm, Paris, France
3. La Charité , Universitätsmedizin, Berlin, Allemagne
4. The Jackson Laboratory for Genomic Medicine, Jackson Institute, Farmington, Etats-Unis
5. Centre for Computational Medicine, Hospital for Sick Children, Toronto, Canada
6. European Molecular Biology Laboratory, European Bioinformatics Institute, Hinxton, Royaume Uni
7. Kinghorn Centre for Clinical Genomics, Garvan Institute for Medical Research, Darlinghurst, Australie
8. Orphanet - US14, Inserm, paris, France

Mots clefs : Maladies rares, Orphanet, phénomique, génomique, interopérabilité, ontologies

Résumé :

Aujourd'hui, la recherche dans le domaine des maladies rares dépend fortement du développement des nouvelles technologies de séquençage qui révolutionnent la découverte de nouveaux gènes causaux. Combiner les données phénotypiques aux données génomiques est un levier majeur pour améliorer notre compréhension des maladies rares et notamment identifier de nouvelles pistes thérapeutiques. L'harmonisation de l'information phénomique, qui inclut les maladies et les traits phénotypiques collectés dans différents contextes et de façon non standardisée, est un enjeu pour produire des données de qualité et promouvoir la recherche.
HIPBI-RD («Harmonising phenomics information for a better interoperability in the rare disease field ») est un projet de trois ans ayant débuté en 2016 et financé par E-Rare 3 ERA-NET. Ce projet repose sur 3 ressources largement utilisées par la communauté des maladies rares : Orphanet et son ontologie, ORDO (Orphanet Rare Disease Ontology), HPO (Human Phenotype Ontology) et PhenoTips. Il repose également sur la participation d'acteurs reconnus dans le domaine des bio-ontologies : l'European Bioinformatics Institute et le Garvan Institute. Le projet vise à fournir à la communauté un écosystème informatique spécifique des maladies rares permettant d'harmoniser la façon dont les données phénomiques sont stockées dans les bases de données et les fichiers patients à travers le monde. L'objectif est ainsi de contribuer à une meilleure interopérabilité et encourager l'exploitation de ces données. Cet écosystème consiste en une suite d'outils et d'ontologies, optimisés pour fonctionner de concert et accessible grâce à entrepôt commun de logiciels
L'écosystème HIPBI-RD contribuera à l'interprétation des données issues des séquençages d'exomes et génomes entiers en harmonisant la façon dont les données phénotypiques sont collectées et participera ainsi à l'amélioration diagnostique. HIPBI-RD permettra la mise à disposition d'une nouvelle ressource qui contribuera à combiner les connaissances cliniques des maladies rares à la recherche axée sur le génome.
Ce projet a reçu un financement dans le cadre de E-Rare3 ERA-NET pour les années 2016-2019.

HIPBI-RD_assises_2018_VF.docx

P640 : Etude génétique du syndrome de Usher de type2 en Algérie

Auteurs :

SAMIA ABDI (1), Mohamed Makrelouf (2), Crystel Bonnet (3), Asma Behlouli (2), Yahia Rous (1), zahida Merad (1), Christine Petit (4), Akila Zenati (2)

1. faculté de medecine , université saad dahleb blida, Blida, Algérie
2. Labo de recherche , CHU BABAELOUED, Alger, Algérie
3. Labo de recherche , Institut de la vision, Paris, France
4. Labo de recherche , Institut de la vision,institut Pasteur, Paris, France

Mots clefs : USH2A,surdité;retinite pigmentaire,mutation

Résumé :

le syndrome de Usher de type 2 est une maladie autosomique recessive caracterisée par une surdité de preception modéree et une retinite pigmentaire qui s'installe aprés la puberté.
Une dizaine de familles algeriennes est recrutée au niveau du service ORL du CHU de Blida;Tous les membres ont subi un prelevement sanguin et l'ADN en est extraite par la méthode au saltin out
Deux mutations au niveau du gene USH2A dont une nouvelle ont été retrouvées , il s'agit d'une deletion ancestrale d'origine europeenne et d'une mutation faux sens qui n'a pa sencore été decrite dans la littérature.

poster assises 2018.docx

P641 : A propos d'une fratrie de 3 enfants atteints de syndrome de Perlman avec mutation homozygote dans le gène DIS3L2

Auteurs :

Laurence PERRIN (1), Laurence PERRIN (2), Fabien GUIMIOT (3, 4), Carsten BERGMANN (5), Alexandra AFENJAR (6), Jean-françois OURY (7), Alain VERLOES (2), Clarisse BAUMANN (2)

1. Génétique Clinique, Hôpital Robert Debré, Paris, France
2. UF de Génétique Clinique, Hôpital Robert Debré, Paris, France
3. UF de Foetopathologie, Hôpital Robert Debré, Paris, France
4. INSERM UMR 1141, F-75019, Univ Paris Diderot, Paris, France
5. Center for Human Genetics, Bioscientia Institute for Medical diagnostics GmbH, Ingelheim, Allemagne
6. GRC ConCer-LD, Sorbonne Universités, UPMC Univ Paris 06 ; Département de génétique médicale, Hopital Armand Trousseau, Paris, France
7. Gynécologie Obstétrique, Hôpital Robert Debré, Paris, France

Mots clefs : syndrome ed Perlman, tumeur de Wilms, nephroblastomatose

Résumé :

Nous rapportons le cas d'une fratrie de 3 enfants présentant un syndrome de Perlman (OMIM 267000). Les parents sont apparentés cousins germains d'origine malienne et ont 4 autres enfants bien portant.
Le premier enfant de sexe masculin est décédé à M45 après une grossesse marquée par des reins de grande taille hyperéchogènes, une macrosomie, une nuque épaisse, un micropénis et un hydramnios. L'autopsie a été refusée.
Le deuxième enfant atteint est de sexe féminin. Etaient notés pendant la grossesse, une macrosomie fœtale, un hydramnios et des gros reins kystiques avec perte de la différenciation corticomédullaire. Une polykystose autosomique récessive a été suspectée. L'enfant est née à terme à 4400g avec un PC à 36.5cm avec une mauvaise adaptation à la vie extra-utérine et une amyotrophie de la paroi abdominale. Elle a développé une encéphalopathie épileptique dont elle décèdera à 4 mois de vie.
Le dernier enfant atteint est un fœtus décédé in utero à 36SA+2. L'échographie retrouvait en anténatal des gros reins hyperéchogènes dédifférenciés, une ascite et un anamnios. L'autopsie a montré une importante distension abdominale liée à la néphromégalie, une hypoplasie pulmonaire et une avance de maturation osseuse. Les paramètres étaient supérieurs au 95èmep. L'examen histologique rénal a montré une néphroblastomatose.
L'ensemble du tableau était évocateur d'un syndrome de Perlman. Une délétion homozygote de l'exon 9 du gène DIS3L2 en 2q37.1 (OMIM 614184) a été mise en évidence. Les parents sont hétérozygotes pour cette délétion.
Le syndrome de Perlman est un syndrome avec croissance excessive décrit en 1973. Il est principalement caractérisé par un hydramnios avec une macrosomie fœtale, une néphromégalie avec une prédisposition aux néphroblastomes, une hypertrophie des îlots de Langerhans et une dysmorphie faciale. La transmission est autosomique récessive. Ce syndrome est généralement de mauvais pronostic avec un taux de mortalité néonatale important. Les enfants qui survivent à la période néonatale ont un risque important de développer une tumeur de Wilms et la plupart présentent un retard de développement.

P642 : EDNRB dans le syndrome de Waardenburg de type II : particularités phénotypiques et difficultés du diagnostic liées à une transmission autosomique dominante à pénétrance incomplète

Auteurs :

Véronique Pingault (1), Sarah Issa (2), Judite de Oliveira (3), Sylvain Poisson (4), Sylvain Hanein (5), Cécile Fourrage (1), Alban Ziegler (6), Bertrand Isidor (7), Philippe Parent (8), Jean-Paul Bonnefont (1), Jeanne Amiel (9), Nadège Bondurand (2), Sandrine Marlin (10)

1. Laboratoire de Génétique moléculaire, Hôpital Necker, Paris, France
2. Embryologie et Génétique des malformation humaines, Institut Imagine, Paris, France
3. Laboratoire de génétique moléculaire, Hopital Necker, Paris, France
4. Laboratoire de Génétique moléculaire, Hôpital Necker, Paris, Paris, France
5. Equipe de Génétique translationnelle, Institut Imagine, Paris, France
6. Centre de référence surdités génétiques, Hôpital Necker, Paris, France
7. Service de génétique médicale, CHU de Nantes, Paris, France
8. Département de pédiatrie et génétique médicale, CHRU de Brest, Brest, France
9. Service de génétique, Hôpital Necker, Paris, France
10. Centre de référence Surdités génétiques, Hôpital Necker, Paris, France

Mots clefs : Syndrome de Waardenburg, surdité, pénétrance, endothéline, EDNRB

Résumé :

Le syndrome de Waardenburg (WS) est une neurocristopathie caractérisée par l'association entre une surdité (il s'agit d'une des formes de surdité syndromiques les plus fréquentes) et des anomalies pigmentaires de la peau, des iris ou des cheveux. Parmi les quatre types décrits sur la base des signes cliniques associés, le type II est le plus difficile à diagnostiquer car il manque des caractéristiques très spécifiques qui favorisent l'identification des trois autres types. Ceci explique sans doute qu'il reste la forme du syndrome de Waardenburg la moins bien comprise sur le plan moléculaire, les mutations conjuguées de MITF et SOX10 n'expliquant que 30% des cas environ.

Nous avons réalisé une étude par séquençage d'exome chez quelques familles et avons identifié un variant faux-sens de EDNRB. Ce gène est déjà connu pour être responsable de syndrome de Waardenburg de type IV par mutations bialléliques. Nous avons exploré une cohorte de patients présentant une suspicion de syndrome de Waardenburg de type II et avons identifié un total de six mutations de *EDNRB* qui entraînent toutes une perte de fonction, ainsi que nous avons pu l'objectiver à l'aide de plusieurs tests fonctionnels in vitro. Nous avons pu montrer que le mode de transmission du syndrome de Waardenburg de type II par mutation de EDNRB est autosomique dominant à pénétrance complète, avec une expressivité variable au sein de la famille.

Nous avons secondairement étudié une cohorte supplémentaire par séquençage nouvelle génération (NGS), utilisé désormais pour le diagnostic de routine du syndrome de Waardenburg dans notre centre et incluant l'étude des gènes identifiés à ce jour comme responsable des WS (PAX3, MITF, EDNRB, EDN3, SOX10, SNAI2) ainsi que KIT (piébaldisme) à titre de diagnostic différentiel. Des cas supplémentaires de syndrome de Waardenburg type II avec mutations de *EDNRB* ont ainsi été identifiés. Cependant, la pénétrance incomplète n'a pas toujours permis de dégager une conclusion simple sur la seule base de l'étude de ségrégation de la famille nucléaire, et nous avons souvent dû explorer la famille de façon approfondie, tant sur le plan clinique que moléculaire. Même si ces études supplémentaires ont mis en évidence la complexité qu'il y a à interpréter la pathogénicité de certaines mutations d'*EDNRB*, elles ont permis de confirmer la présence de certaines des caractéristiques phénotypiques observées dans la première étude.

P643 : Extension du spectre des atteintes neurologiques associées aux mutations bialléliques du gène FLVCR1

Auteurs :

Marlene Rio (1, 2), Cyril Gitiaux (3), sylvie gerber (4), vincent cantagrel (2), Nathalie Boddaert (5, 2), Jean-Michel Rozet (4)

1. service de génétique, Hôpital Necker-Enfants Malades, APHP, Paris, France
2. INSERM UMR 1163, Institut Imagine, Université Paris Descartes Sorbonne Paris Cité, Paris, France
3. service de neuropédiatrie, Hôpital Necker-Enfants Malades, APHP, Paris, France
4. Laboratoire de Génétique Ophtalmologique, INSERM UMR1163, Institut Imagine, Université Paris Descartes Sorbonne Paris Cité, Paris, France
5. service de radiologie, Hôpital Necker-Enfants Malades, APHP, Paris, France

Mots clefs : rétinite pigmentaire, ataxie, déficience intellectuelle

Résumé :

Les rétinites pigmentaires (RP) représentent un grand groupe de maladies génétiques caractérisées par la perte progressive des photorécepteurs associée à une altération de l'épithélium pigmentaire rétinien. Les formes syndromiques sont nombreuses mais rares individuellement. L'atteinte extra-oculaire constitue souvent l'élément essentiel du pronostic de ces affections. PCARP (Posterior column ataxia with retinitis pigmentosa) est une maladie neurodégénérative récessive autosomique débutant dans l'enfance, caractérisée par une rétinite pigmentaire et une ataxie sensorielle, en rapport avec des mutations homozygotes ou hétérozygotes composites du gène *FLVCR1*. Aucune atteinte cognitive n'a été rapportée à ce jour dans la vingtaine de cas rapportés à l'exception d'une fratrie avec déficience intellectuelle légère.
Nous rapportons la caractérisation clinique et radiologique de deux patients non apparentés porteurs d'altérations bialléliques non référencées du gène *FLVCR1*. Le patient 1, un garçon porteur des mutations c.839G > C (p.G280A) et c.1546C > T (p.Arg516*), est né à terme, après une grossesse et un accouchement non compliqués, avec des paramètres de naissance normaux. Une hypotonie a été notée à la naissance et il a développé une épilepsie à l'âge de 3 jours. L'évolution a été marquée par une épilepsie réfractaire et une absence d'acquisition psychomotrice. Une rétinite pigmentaire a été diagnostiquée à l'âge de 1 an. À 8 ans, il n'a aucun contact oculaire, une hypotonie axiale avec aréflexie et une microcéphalie (-3SD). Il existe à l'IRM cérébrale une hypoplasie cérébelleuse. L'électromyogramme montre une neuropathie sensorielle. Le patient 2, un garçon porteur des mutations c.1375G > C (p.G459Q) et c.1024+1G > T, est né à terme après une grossesse non compliquée. Son examen physique et neurologique était normal les 4 premiers mois. Il a présenté un syndrome de West à l'âge de 5 mois. Il a marché à 4 ans et n'a jamais développé de langage. La rétinite pigmentaire et la neuropathie sensorielle ont été diagnostiquées à l'âge de 15 ans. À l'âge de 16 ans, il pesait 32 kg (-3SD), mesurait 141 cm (-4SD) et son périmètre crânien était de 50 cm (-4 SD).
L'existence d'un retard de développement, d'une déficience intellectuelle sévère, d'une épilepsie et d'une microcéphalie post-natale chez ces deux patients élargit le spectre des atteintes neurologiques associées aux mutations du gène *FLVCR1*. Les deux patients sont hétérozygotes composites pour une mutation tronquante et une mutation faux-sens considérée comme délétère par tous les logiciels prédicteurs et non référencées à ce jour, posant la question de l'existence possible de corrélations génotype-phénotype.

P644 : Caractérisation de variants structuraux complexes sur de petits panels de gènes par analyse des reads chimériques

Auteurs :

Sophie Coutant (1, 2), Stéphanie Baert-Desurmont (1, 2), Olivier Quenez (1, 2), Kevin Cassinari (1, 2), Mathias Schwartz (1, 2), Maud Blanluet (1, 2), François Lecoquierre (1, 2), Nathalie Drouot (2), Stéphanie Vasseur (2), Raphael Lanos (1, 2), Myriam Vezain (1, 2), Françoise Charbonnier (1, 2), Isabelle Tournier (1), Thierry Frebourg (1, 2), Pascale Saugier-Veber (1, 2)

1. Inserm U1245, UNIROUEN, Normandie Univ, Centre Normand de Génomique et de Médecine Personnalisée, Rouen, France
2. Département de Génétique, CHU de Rouen, Centre Normand de Génomique et de Médecine Personnalisée , Rouen, France

Mots clefs : Bioinformatique, Genomique, panel de gènes NGS, capture, variants structuraux, reads chimériques

Résumé :

Un des principaux défis du diagnostic moléculaire réalisé par NGS est la détection de variants structuraux (SVs) complexes. Les reads chimériques (ou Split Read, SR) correspondent à des reads pour lesquels chacune des deux extrémités présente une séquence s'alignant sur deux zones du génome distantes l'une de l'autre. Ces reads signent l'existence de SVs, qu'il s'agisse de délétions, de duplications, d'insertions ou d'inversions. Ils permettent d'identifier avec précision les points de cassure. La plupart des algorithmes d'alignement marquent les reads chimériques à l'aide d'un tag spécifique. Dans les données de capture de panels de gènes, ces reads ne représentent qu'une portion infime de la totalité des séquences, ce qui rend leur visualisation difficile parce qu'ils sont noyés dans l'ensemble des reads. Il est cependant possible de les extraire grâce au marquage effectué par l'aligneur, permettant de générer un fichier bam ne contenant que ces reads. Nous rapportons l'identification, grâce à l'analyse des reads chimériques effectuées après séquençage haut débit (NGS) d'un panel de gènes (capture SureSelect QXT des régions exoniques et introniques puis séquençage Illumina sur MiSeq ou NextSeq), de 4 SVschez des patients présentant un syndrome de Peutz-Jeghers ou de Cornelia de Lange : (i) une délétion des exons 3 à 10 du gène *STK11* s'étendant en 3' jusqu'à l'exon 4 du gène *CBARP ;* (ii) une délétion des exons 7 à 47 du gène *NIPBL* s'étendant en 3' jusqu'à l'exon 52 du gène *C5orf52* ; (iii) une délétion partielle de l'exon 9 du gène *NIPBL* et (iv) un remaniement complexe du gène *NIPBL* comportant deux délétions (exons 11-12, exons 13-17), une insertion et une inversion. Ces 4 observations sont caractérisées par une étape d'errance diagnostique, les investigations initiales n'ayant pas permis de détecter le variant structural. Devant la certitude diagnostique des cliniciens, les analyses ont été reprises en envisageant d'autres mécanismes mutationnels. Dans tous les cas, la détermination des points de cassure a permis la mise au point d'un test sensible pour la recherche du réarrangement génomique par PCR Sanger, ce qui a autorisé la réalisation de diagnostic prénatal. Si l'analyse des reads chimériques sur les données de séquençage de génome entier s'est généralisée, en revanche, elle n'est pas courante sur les données de séquençage NGS de petits panels. La fréquence des SVs détectés sur petits panels NGS nous incite à déployer systématiquement une analyse des reads chimériques et dans cette optique, l'outil GRIDSS est en cours d'évaluation. La stratégie de capture incluant les introns des gènes majeurs impliqués dans ces pathologies conditionne la détection et la caractérisation de ces SVs. Dans ces conditions, le panel présente une supériorité notable sur l'exome : la meilleure couverture et la meilleure profondeur de couverture améliorent la détection des variations ponctuelles, des CNV et des SV et ainsi augmentent le rendement diagnostique.

P645 : Le syndrome de Peters plus : à propos d'une famille marocaine

Auteurs :

Ghizlane Jabrane (1), Nadia Serbati (2), Hind Dehbi (2), Sellama Nadifi (2)

1. Laboratoire de génétique et de pathologie moleculaire, Université Hassan II Casablanca, Casablanca, Maroc
2. Laboratoire de génétique et de pathologie moleculaire, Université Hassan II , Casablanca, Maroc

Mots clefs : Peters plus, glaucome congénital, polymalformation

Résumé :

Le syndrome de Peter plus est un syndrome polymalformatif rare caractérisé par une association d'anomalie de Peters de l'œil et d'autres malformations extra oculaires, y compris un nanisme avec déficit intellectuel, une fente palatine, et des caractéristiques faciales distinctives. C'est une maladie autosomique récessive causée par des mutations d'un gène récemment découvert *B3GLCTL*, qui code pour l'enzyme O-fucose-specific β-1,3-glucosyltransferase.
Nous rapportons la description clinique de 2 enfants (frère et sœur) issus de parents apparentés, atteints de l'anomalie oculaire de Peters avec glaucome et cataracte, associé à un retard de croissance, une fente palatine, des malformations cardiaques, rénales et digestives. A travers cette famille, nous tenons à étendre les caractérisations du spectre clinique et génétique nécessaire pour le conseil génétique et le diagnostic prénatal de ce syndrome.

travail assise 2018.docx

P646 : Le syndrome d'Alport : à propos d'un cas

Auteurs :

Ghizlane Jabrane (1), Nadia Serbati (2), Hind Dehbi (2), Sellama Nadifi (2)

1. Laboratoire de génétique et de pathologie moleculaire, Université Hassan II Casablanca, Casablanca, Maroc
2. Laboratoire de génétique et de pathologie moleculaire, Université Hassan II , Casablanca, Maroc

Mots clefs : Alport, cranistenose, déficit intellectuel

Résumé :

Le syndrome d'Apert est une malformation majeure, associant une facio-craniosténose et des syndactylies osseuses et membranaires des quatre extrémités. L'atteinte mentale est décrite en absence de prise en charge chirurgicale, souvent associée à des malformations cérébrales. La grande majorité des patients (plus de 98%) présente une des deux mutations adjacentes (Ser252Trp et Pro253Arg) du gène FGFR2 (pour fibroblast growth factor receptor type). La correction du recul maxillaire et de l'hypertélorisme n'est pas à envisager (sauf cas particulièrement sévères) avant l'âge de 4 ans minimum. Les indications sont à discuter au cas par cas.
Nous rapportons le cas d'une femme de 20 vingt jamais pris en charge présentant les signes cliniques du syndrome d'apert sans déficit intellectuel.

Le syndrome d'apert resumé.docx

P647 : La néphrite interstitielle caryomégalique : à propos d'une famille tunisienne

Auteurs :

Molka Sebai (1), Ahlem Achour (1), Imen Rejeb (1), Houweyda Jilani (1), Mouna Jerbi (2), Yasmina Elaribi (1), Syrine Hizem (1), Meriem Chaouch (1), Amel Zerzeri (1), Rym Goucha (2), Lamia Ben Jemaa (1)

1. Service des maladies congénitales et héréditaires, Hôpital Mongi Slim, la Marsa, Tunis, Tunisie, Tunis, Tunisie
2. Service de néphrologie , Hôpital Mongi Slim, la Marsa, Tunis, Tunisie, Tunis, Tunisie

Mots clefs : néphrite interstitielle chronique, insuffisance rénale, ochratoxine A, FAN1, mutation

Résumé :

La néphrite interstitielle caryomégalique (NIC) est une néphropathie tubulo-interstielle chronique très rare définie par l'existence sur le plan histologique d'une caryomégalie des cellules épithéliales tubulaires rénales. Elle évolue vers l'insuffisance rénale qui apparaît au cours de la troisième décennie. A ce jour moins d'une cinquantaine de cas ont été rapporté dans la littérature. Les données actuelles désignent l'ochratoxine A (OTA) et les polymorphismes génétiques des enzymes et des transporteurs intervenant dans sa toxicinétique comme facteurs étiologiques causaux les plus probables. Le caractère fréquemment familial, la fréquence élevée des haplotypes HLA A9 et B35 et l'atteinte rénale sélective chez certains membres d'une même famille tous intoxiqués par l'OTA ont fait suspecter une participation génétique. Par ailleurs, des mutations du gène *FAN1* associées à la NIC ont récemment été identifiées par Whole Genome Sequencing.
Notre travail a porté sur une famille du nord de la Tunisie composée de 34 individus dont 14 membres explorés. Trois patients issus d'une même fratrie étaient atteints de NIC.
Sur le plan clinique, les trois frères ont été diagnostiqués à l'âge de 36 ans, 32 ans et 39 ans par ponction biopsie rénale. Ils étaient en insuffisance rénale au moment du diagnostic, dont un à son stade terminal. Les deux premiers frères ont également présenté une atteinte hépatique associée à type de choléstase et cytolyse avec un bilan étiologique négatif.
Sur le plan génétique, nous avons étudié dans un premier temps par PCR-RFLP les polymorphismes CYP3A4*18 et A313G respectivement des gènes *CYP3A4* et *GSTP1* chez les 14 membres de la famille. Nous n'avons pas retrouvé d'association significative entre ces marqueurs et la NIC.
Nous avons procédé par la suite à un séquençage du gène *FAN1* chez les deux premiers frères. Tous deux étaient porteurs d'une mutation délétère à l'état homozygote au niveau de l'exon 12 de type délétion qui engendre un codon stop prématuré.
La NIC est une affection rénale chronique rare et grave. Son étiopathogénicité n'est pas établie jusque là. Nous avons retrouvé une mutation délétère au niveau de l'exon 12 du gène *FAN1* au sein d'une famille tunisienne comprenant trois frères atteints. L'identification de cette mutation délétère familiale au niveau du gène *FAN1* a permis de confirmer le diagnostic, de présenter un conseil génétique adéquat pour cette famille et donc une prise en charge néphrologique précoce.

Abstract NIC Assises.docx

P648 : Le syndrome de Caroli : à propos de 2 cas tunisiens

Auteurs :

Meriem Chaouch (1), Ahlem Achour (1), Imen Rejeb (2), Houweyda Jilani (3), Syrine Hizem (4), Molka Sebai (4), Haifa Ouarda (4), Yasmina Elaribi (4), Laurence Michel (5), Ahmed Maherzi (6), Lamia Ben Jemaa (4)

1. Service des maladies congénitales et héréditaires, Hôpital Mongi Slim, La marsa , Hopital Mongi Slim , La marsa , tunis, Tunisie
2. Service des maladies congénitales et héréditaires, Hôpital Mongi Slim, La marsa , Hopital Mongi Slim , La marsa , Tunis, Tunisie
3. Service des maladies congénitales et héréditaires, Hôpital Mongi Slim, La marsa , Hopital Mongi Slim , La marsa, Tunis, Tunis, Tunisie
4. Service des maladies congénitales et héréditaires, Hôpital Mongi Slim, La marsa , Hopital Mongi Slim , La marsa, Tunis, tunis, Tunisie
5. Service de Biochimie et Biologie Moléculaire, Groupement Hospitalier Est, Bron, Groupement Hospitalier Est, Bron, France, Lyon, France
6. Service de pédiatrie et de néonatologie, hopital Mongi Slim, La marsa, Hopital Mongi Slim , La marsa, Tunis, tunis, Tunisie

Mots clefs : syndrome de Caroli, fibrose hépatique congénitale, polykystose rénale, PKHD1

Résumé :

La maladie de Caroli est définie par la présence de multiples dilatations kystiques segmentaires ou sacculaires des canaux biliaires intra-hépatiques. Lorsqu'elle est associée à une fibrose hépatique congénitale, on parle de syndrome de Caroli. Ce dernier est fréquemment associé à une maladie polykystique rénale. Dans ce cas, des mutations du gène PKHD1 sont souvent retrouvées.
Nous rapportons les observations de deux patients présentant un syndrome de Caroli.
La première patiente est âgée de 6 ans et demi. Elle est suivie depuis l'âge de 6 mois pour dilatation kystique des voies biliaires inta-hépatiques associée à une fibrose hépatique congénitale. L'échographie rénale a montré une néphromégalie bilatérale avec des reins dédifférenciés, siège de multiples microkystes, pouvant cadrer avec une polykystose rénale récessive. Le séquençage du gène PKHD1 a mis en évidence la mutation faux-sens c.8312T>C (p.Val2771Ala) localisée sur l'exon 53. Cette mutation a été retrouvée à l'état homozygote. L'étude des parents est en cours.
Le deuxième patient est âgé de 7 ans, il est suivi depuis l'âge d'un an pour fibrose hépatique congénitale avec dilatation kystique des voies biliaires intra-hépatiques, associée à une polykystose rénale. Le tableau clinique s'est compliqué de deux épisodes d'hémorragie digestive (hématémèse et méléna) suite à l'apparition de varices œsophagiennes. Les fonctions rénale et hépatique sont jusque là conservées. L'étude moléculaire du gène PKHD1 est en cours.
En conclusion, le syndrome de Caroli est une pathologie lourde dont les complications peuvent être graves. Les patients atteints de ce syndrome doivent faire le dépistage d'une éventuelle atteinte rénale étant donné la fréquence de l'association à une polykystose rénale. Vu la transmission autosomique récessive de la pathologie, il est important de dépister les autres membres de la famille pour un diagnostic et une prise en charge précoces.

Caroli final assises.docx

P649 : Une nouvelle mutation (p.S591Y) du gène TGFBI associée à une dystrophie cornéenne type IIIa chez une famille marocaine

Auteurs :

yahya benbouchta (1), mouna ouhenach (2), Abdelali Zrhidri (3), jaber Lyahyai (3), Hamza Elorch (4), Amina BERRAHO (5), imane cherkaoui (2), abdelaziz Sefiani (2)

1. Département de Génétique Médicale, Institut National d'Hygiène de Rabat., Laboratoire de Génetique et Biométerie, Université Ibn Tofail, Faculté des sciences , Kénitra , Morocco ., rabat, Maroc
2. Département de Génétique Médicale, Institut National d'Hygiène de Rabat., Centre de Génomique Humaine, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université Mohammed V Rabat, Maroc., rabat, Maroc
3. Département de Génétique Médicale, Institut National d'Hygiène de Rabat., Centre de Génomique Humaine, Faculté de Médecine et de Pharmacie ,Université Mohammed V Rabat , Maroc, rabat, Maroc
4. Service d'ophtalmologie , hopitale des spécialité , rabat., Faculté de Médecine et de Pharmacie , Université mohammed V rabat, Maroc., rabat, Maroc
5. Service d'ophtalmologie , hopitale des spécialité , rabat., faculté de Médecine et de pharmacie Rabat, Maroc., rabat, Maroc

Mots clefs : Corneal dystrophy, Lattice corneal dystrophy type IIIA, TGFBI gene

Résumé :

Corneal dystrophies (CDs) are a group of hereditary disorders, characterized by bilateral and progressive primary alterations of the cornea layers, they are classified according to characteristic of the clinical features . The transforming growth factor beta induced gene *(TGFBI)* has been related to many types of CDs including lattice corneal dystrophy of types I and IIIa, deep stromal LCD , granular corneal dystrophy type I and II, and Reis–Bueckler corneal dystrophy . Some mutations in *TGFBI* are frequently linked to special forrn of CD, but a genotype-phenotype correlation is not always certain .

In this study we report a Moroccan family with 12 affected individuals by corneal dystrophy which started at the age of 20-23 years . According to the pedigree , the mode of transmission of the disease is autosomal dominant, and the clinical diagnosis revealed a lattice corneal dystrophy stromal type IIIa .

The exome analysis revealed a missense mutation in the *TGFBI* gene at heterozygous state (c.1772C > A; p.S591Y). this mutation was confirmed by sanger sequencing in the propositus and in tow of his affected siblings .

We conclude that the novel mutation p.S591Y causes lattice corneal dystrophy type IIIA in the studied family.This is the first report of the p.S591Y mutation within *TGFBI* in LCD IIIA worldwide.

-abstract LCD type IIIa (1).docx

P650 : Diagnostic des surdités génétiques à Montpellier : bilan d'une stratégie d'analyse sur une cohorte de 207 familles

Auteurs :

Corinne BAUDOIN (1), david BAUX (1), Christel VACHE (1), Catherine BLANCHET (2), Marjolaine WILLEMS (2), Mélody MOCLYN (1), Valérie FAUGERE (1), Renaud TOURAINE (3), Bertrand ISIDOR (4), Delphine DUPIN-DEGUINE (5), Mathilde NIZON (4), Marie VINCENT (4), Sandra MERCIER (4), Catherine CALAIS (4), Laetitia LAMBERT (6), Yaumara PERDOMO TRUJILLO (7), Fabienne GIULIANO (8), Mireille CLAUSTRES (1), Michel KOENIG (1), Michel MONDAIN (2), Anne-Françoise ROUX (1)

1. génétique moléculaire, CHU Montpellier, montpellier, France
2. ophtalmologie, CHU Montpellier, montpellier, France
3. génétique médicale, CHU Saint-Etienne, Saint-Etienne, France
4. génétique médicale, CHU Nantes, Nantes, France
5. génétique médicale, CHU Toulouse, Toulouse, France
6. Neonatalogie, CHRU Nancy, Nancy, France
7. ophtalmologie, CHU Strasbourg, Strasbourg, France
8. génétique médicale, CHU Nice, Nice, France

Mots clefs : surdités, diagnostic, NGS, Syndrome de Usher, mutations introniques profondes, mutation de novo

Résumé :

Les surdités représentent le déficit sensoriel le plus fréquent chez l'homme avec une prévalence de 1 sur 600 naissances. Plus de la moitié des surdités ont une origine génétique et peuvent se présenter sous forme non-syndromique ou syndromique. Plus de 100 gènes sont impliqués dans les surdités non-syndromiques, encore plus dans les formes syndromiques. L'implantation du séquençage nouvelle génération dans les laboratoires de diagnostic a permis une amélioration considérable de l'offre diagnostique des surdités grâce au criblage simultané de dizaines de gènes.
Nous présentons ici les résultats obtenus sur une cohorte de 207 familles recrutés et analysés sur une période de deux ans. Tous les patients présentaient une surdité non-syndromique.
Notre stratégie « multi-étapes » propose une analyse initiale au locus *DFNB1* (gène *GJB2* et délétions *GJB6*) pour tous les cas index, puis une analyse NGS sur 74 gènes (incluant 10 gènes Usher) sur les cas non résolus. Des analyses complémentaires peuvent être nécessaires soit pour valider l'effet délétère d'un variant (ex : analyse par minigènes pour caractériser des altérations d'épissage) soit pour identifier le génotype pathogène complet (ex : séquençage des 800 kb du gène *USH2A* pour la mise en évidence de mutations introniques profondes).
Cette démarche exhaustive a permis d'identifier l'origine de la surdité chez 48% des patients analysés, répartis de façon égale entre *DFNB1* (24%) et les autres gènes (24%). Les génotypes pathogènes ont été identifiés dans 19 gènes différents avec une prévalence plus importantes des gènes *GJB2, STRC, MYO15A, OTOF, TMC1, MYO7A et USH2A.* L''implication d'un gène Usher a été reporté dans 16% des cas de notre cohorte. Il est possible que tous les patients porteurs de mutations dans un gène Usher ne développeront pas un syndrome de Usher et le pronostic doit prendre en compte l'âge du patient. Néanmoins, le conseil génétique en sera modifié et un suivi clinique en ophtalmologie devient indispensable pour mettre en place une prise en charge adéquate si nécessaire. Par ailleurs, grâce aux analyses de ségrégation familiale, 4 variants apparus *de novo* ont été mis en évidence.
Cette étude a permis de démontrer la nécessité de développer plusieurs approches pour améliorer le diagnostic moléculaire des surdités, pour une meilleure prise en charge par le conseil génétique et une détection précoce des formes syndromiques.

Baudoin et al.docx

P651 : Le chevauchement phénotypique des RASopathies : à propos d'un cas de syndrome de Costello

Auteurs :

Ahlem Achour (1), Meriem Chaouch (2), Imen Rjeb (2), Yasmina Elaribi (2), Houweyda Jilani (2), Molka Sebai (2), Amel Zerzeli (2), Ines Selmi (3), Syrine Hizem (2), Lars-Erik Wehner (4), Ahmed Mahrezi (3), Lamia Ben Jemaa (2)

1. Maladies Congénitales et Héréditaires , Hôpital Mongi Slim , La Marsa, Tunis, Tunisie
2. Maladies Congénitales et Héréditaires , Hôpital Mongi Slim , La Marsa, La Marsa, Tunisie
3. Pédiatrie et néonatologie, Hôpital Mongi Slim , La Marsa, La Marsa, Tunisie
4. Laboratoire de diagnostic génétique, KÖLN , kÖln, Allemagne

Mots clefs : RASopathies, Syndrome de Costello, voie RAS/MAPK, p.G13C

Résumé :

Le syndrome de Costello est une maladie autosomique dominante qui appartient au groupe des RASopathies. Environ 600 cas ont été rapportés jusqu'à ce jour. Il est causé par des mutations du gène *HRAS* (95% des cas) qui joue un rôle dans l'activation de la voie RAS/MAPK. Le variant p.G12S représente la mutation la plus fréquente (90% des cas). D'autres mutations plus rares ont été rapportées, comme la mutation p.G13C qui n'est présente que dans 1,4% des cas. Le syndrome de Costello causé par cette dernière mutation se distingue par des anomalies cutanées à type de raréfaction des cheveux, des cils longs et recourbées, et un teint clair.
Le but de ce travail est de rapporter les caractéristiques cliniques d'un cas rare de syndrome de Costello par mutation p.G13C à travers l'observation d'un patient Tunisien.
Il s'agit d'un patient issu d'un mariage non consanguin, adressé à l'âge de 18 mois pour dysmorphie faciale et stridor congénital. L'interrogatoire a révélé la notion d'hydramnios, macrosomie fœtale et retard psychomoteur. L'examen clinique a montré un poids et une taille à la moyenne, une macrocéphalie à +3.25 DS, une dysmorphie faciale faite de traits grossiers, cheveux et sourcils raréfiés, cils longs et recourbé, front bombé, narines antéversées et lèvres épaisses. Par ailleurs, il existe des anomalies cutanées à type de peau sèche et d'hypersudation. L'échographie cardiaque n'a pas révélé d'anomalies.
Devant l'atteinte des phanères, nous avons évoqué en premier lieu un syndrome cardio-facio-cutané malgré l'absence de cardiopathie. Un panel de gènes des RASopathies a été réalisé et a infirmé ce diagnostic. En effet, il a montré la mutation p.G13C du gène *HRAS*, ce qui confirme le diagnostic de syndrome de Costello. L'étude des parents est en cours.
Cette observation montre l'hétérogénéité clinique du syndrome de Costello d'une part et le chevauchement phénotypique des RASopathies d'autre part. Elle souligne l'intérêt de l'étude moléculaire par panel de gènes en première intention dans ces syndromes.

Costello final soumis.docx

P652 : Caractérisation d'un marqueur chromosomique surnuméraire par CGH array: à propos d'un cas de tétrasomie 18p

Auteurs :

Meriem Chaouch (1), Molka Sebai (2), Yasmina Elaribi (2), Syrine Hizem (2), Houweyda Jilani (3), Imen Rejeb (4), Ahlem Achour (1), Meriam Mkadmini (2), Meyssa Merida (2), Sonia Blibech (5), Mohamed Douagi (5), Lamia Ben Jemaa (2)

1. Service des maladies congénitales et héréditaires, Hôpital Mongi Slim, La marsa , Hopital Mongi Slim , La marsa , tunis, Tunisie
2. Service des maladies congénitales et héréditaires, Hôpital Mongi Slim, La marsa , Hopital Mongi Slim , La marsa, Tunis, tunis, Tunisie
3. Service des maladies congénitales et héréditaires, Hôpital Mongi Slim, La marsa , Hopital Mongi Slim , La marsa, Tunis, Tunis, Tunisie
4. Service des maladies congénitales et héréditaires, Hôpital Mongi Slim, La marsa , Hopital Mongi Slim , La marsa , Tunis, Tunisie
5. Service de néonatologie, Hôpital militaire principal d'instruction de Tunis, Hôpital militaire principal d'instruction de Tunis, Tunisie, tunis, Tunisie

Mots clefs : tétrasomie 18p, isochromosome, syndrome polymalformatif, CGH array

Résumé :

La tétrasomie18p est une anomalie chromosomique caractérisée par la présence d'un isochromosome surnuméraire formé de 2 bras courts du chromosome 18. Elle apparait le plus souvent de novo, majoritairement suite à une non disjonction ou une mal division centromérique durant la méiose. Son incidence est de 1/140000 à 1/180000 naissances vivantes et affecte d'une façon égale les deux sexes. La tétrasomie18p est caractérisée par un phénotype variable mais elle s'accompagne dans la majorité des cas d'un syndrome polymalformatif (microcéphalie, dysmorphie faciale, malformations cardiaques, cérébrales et squelettiques), un retard de croissance, et un retard de développement sévère.

Nous rapportons l'observation d'une patiente présentant un syndrome polymalformatif, une paralysie faciale périphérique et un retard de croissance, en rapport avec une tétrasomie 18p identifiée par la technique de CGHarray (comparative genomic hybridation) couplée à la FISH (hybridation in situ fluorescente).
Notre patiente âgée de 9 mois, présentait une cardiopathie congénitale complexe (canal artériel persistant, foramen ovale perméable et sténose de l'artère pulmonaire), une dysmorphie faciale (strabisme convergent, épicanthus bilatéral, paralysie faciale périphérique, hypoplasie mandibulaire droite, microstomie, rétrognathisme, microtie de l'oreille droite), des anomalies des extrémités (camptodactylie du 3ème et 4ème doigts gauches, hypoplasie de la phalange distale des pouces et implantation proximale des gros orteils), et un retard de croissance en rapport avec des difficultés alimentaires. L'IRM cérébrale a montré une discrète atrophie cérébrale insulaire et temporale gauche et une hypoplasie du nerf VII droit.
Le caryotype a mis en évidence un marqueur chromosomique surnuméraire homogène. Afin d'identifier ce marqueur, nous avons complété par une CGHa, qui a montré une amplification du bras court du chromosome 18. La technique de FISH utilisant la sonde télomérique 18pter a permis de confirmer le diagnostic de tétrasomie 18p devant la présence de 4 copies du bras court du chromosome 18. La dysmorphie faciale, les anomalies des extrémités et la cardiopathie, présentes chez notre patiente ont été décrites chez les patients avec tétrasomie 18p. La présentation clinique dans ce syndrome est caractérisée par une grande variabilité phénotypique, ce qui rend le diagnostic clinique difficile, d'où l'intérêt de l'exploration cytogénétique.
En conclusion, bien que le caryotype ait retrouvé une anomalie chromosomique expliquant le syndrome polymalformatif de notre patiente, l'apport de la CGH était considérable pour permettre son identification, montrant ainsi l'importance de la complémentarité des techniques de cytogénétique conventionnelle et moléculaire pour le diagnostic des syndromes polymalformatifs.

tétrasomie 18p assises final.docx

P653 : Evaluation de scores bioinformatiques de confiance dédiés au séquençage au débit pour prédire la présence ou l'absence de variations génomiques d'intérêt à partir d'une série de 1537 variations génomiques

Auteurs :

Ange-Line Bruel (1, 2), Philippine Garret (3, 1), Christophe Philippe (1, 4), Frédéric Tran Mau-Them (1, 4), Antonio Vittobello (1, 4), Virginie Quéré (1, 4), Mirna Assoum (1), Sophie Nambot (1, 5), Thibaud Jouan (1, 4), Martin Chevarin (1, 4), Charlotte Poë (1, 4), Emilie Tisserant (1), Laurence Faivre (1, 5), Christel Thauvin-Robinet (1, 5), Yannis Duffourd (6, 4)

1. FHU-TRANSLAD,INSERM UMR1231, Équipe GAD, Université Bourgogne-Franche Comté/CHU Dijon, Dijon, France
2. Unité Fonctionnelle Innovation en Diagnostic génomique des maladies rares, FHU-TRANSLAD, CHU Dijon Bourgogne, Dijon, France
3. Laboratoire CERBA, Laboratoire CERBA, Saint-Ouen l'Aumône, France
4. Unité Fonctionnelle Innovation en Diagnostic génomique des maladies rares, CHU Dijon, Dijon, France
5. Centre de Référence Anomalies du Développement et syndromes malformatifs, centre de génétique, CHU Dijon, Dijon, France
6. FHU-TRANSLAD, Équipe EA42271 GAD, Université Bourgogne-Franche Comté/CHU Dijon, Dijon, France

Mots clefs : SHD, Sanger

Résumé :

Les nouvelles technologies de séquençage haut-débit (SHD), notamment d'exome et de génome (WES/WGS) ont révolutionné la génétique médicale et sont devenus un outil incontournable en diagnostic et en recherche. Au cours des dernières années, le perfectionnement des protocoles, l'augmentation de la couverture et de la profondeur de séquençage, de même que l'amélioration des algorithmes, font poser la question de la nécessité de valider secondairement, par un séquençage ciblé en Sanger, chacune des nombreuses variations candidates identifiées en SHD. La technique de Sanger a en effet été considérée pendant de nombreuses années comme le gold standard pour confirmer la présence d'une variation génomique avec une fréquence allélique supérieure à 15%.
Afin de déterminer des critères de positivité et fixer un seuil de confiance pour la détection d'une variation génomique d'intérêt identifiée par WES, qui permettrait d'éviter une vérification secondaire systématique par séquençage Sanger, nous avons réalisé une étude rétrospective comparant plusieurs scores bioinformatiques reflétant les caractéristiques principales d'une mutation telles que : la qualité des bases, les biais de brins, la localisation sur les lectures... Ces observations ont été réalisées sur les données de 1537 variations candidates identifiées dans le cadre de notre activité diagnostique (760 variations) et de recherche (777 variations), incluant 1343 SNV et 194 indel. Ces variations ont toutes fait l'objet d'un séquençage Sanger et d'un WES. Une concordance de 91.1 % (vrais-positifs et vrais-négatifs) entre les 2 technologies a été observée, alors que moins de 0.5 % des variations vérifiées semblent être des faux-négatifs. La part importante de faux-positifs (8.5%) peut s'expliquer par une stratégie d'analyse conservatrice des variations détectées, choix délibéré permettant de minimiser les risques de non-détection des variations d'intérêt. Nous avons ensuite comparé ces résultats de séquençage Sanger aux scores bioinformatiques issus des données de WES. Les premiers résultats montrent qu'aucun de ces scores ne peut être utilisé de façon discriminante pour déterminer la présence d'un vrai-positif ou d'un faux-négatif et ainsi éviter une vérification systématique par séquençage Sanger.
Bien que la large majorité des variations d'intérêt identifiées en WES aient été également retrouvées par le séquençage Sanger, la proportion non négligeable de faux-positifs (8.5%) souligne la nécessité d'une vérification secondaire systématique par cette méthode, en l'absence de scores bioinformatiques discriminants. Le développement d'un nouveau score bioinformatique, incluant probablement des éléments de fréquences populationnelles, serait pourtant essentiel à l'avenir pour limiter le nombre important de séquençages générés par la vérification systématique des nombreuses variations génomiques d'intérêt produites par les plateformes de SHD, notamment dans le cadre du Plan France Médecine Génomique 2025.

2018_Assise de Génétique_AngeLine-ngs vs sanger.docx

P654 : eKLIPse: un nouvel outil de détection et de quantification des délétions de l'ADN mitochondrial à partir de données de séquençage haut débit.

Auteurs :

David Goudenège (1, 2), Virginie Hoffman (2), Céline Bris (1, 2), Valérie Desquiret - Dumas (1, 2), Patrizia Bonneau (1, 2), Dominique Bonneau (3, 2), Sylvie Bannwarth (4), Véronique Paquis-FLUCKLINGER (4), Pascal Reynier (1, 2), Guy Lenaers (2), Vincent Procaccio (1, 2)

1. Département de biochimie et génétique, CHU d'Angers, Angers, France
2. MITOVASC – Equipe MITOLAB UMR CNRS 6214 - INSERM 1083, Université d'Angers, Angers, France
3. Servide de génétique clinique et cytogénétique, CHU d'Angers, Angers, France
4. Service de génétique clinique, CHU de Nice, Nice, France

Mots clefs : ADN mitochondrial, Maladies mitochondriales, Séquençage haut-débit, Bioinformatique, Délétions

Résumé :

Introduction
La recherche des grandes délétions de l'ADN mitochondrial (ADNmt) est indispensable dans la prise en charge diagnostique des maladies mitochondriales, car elles peuvent-être une cause primaire de la maladie dans le cas des délétions simples sporadiques, soit le reflet d'une anomalie de maintenance de l'ADNmt dans le cas des délétions multiples, notamment par mutation d'un gène nucléaire. Jusqu'à présent, leur détection reposait sur des techniques peu sensibles et peu spécifiques. Le développement des techniques de séquençage haut débit a permis d'améliorer la sensibilité de détection des variants ponctuels, mais aucun outil de détection des délétions ne semble adapté aux « reads single-end » et aux spécificités de l'ADNmt, comme l'hétéroplasmie. Nous avons donc développé un outil *in silico* adapté à ces problématiques.
Principe et performances d'eKLIPse
L'outil *in silico* analyse les anomalies d'alignement observées sur les données NGS et plus particulièrement le concept de soft-clipping qui consiste à rogner les extrémités des séquences ne s'alignant pas sur la référence. Ces erreurs d'alignements terminal peuvent être dues à des erreurs de séquençage (homopolymères, répétitions), mais aussi à des CNV. A partir des fichiers d'alignements, eKLIPse va analyser ces zones de soft-clipping afin de prédire si elles sont dues ou non à des délétions, selon le processus suivant :

- Analyse de la couverture ;
- Identification des régions de soft-clipping ;
- BLAST des différentes séquences soft-clippées ;
- Création de liens entre les positions de soft-clipping et les régions où devraient s'aligner les parties soft-clippées.
- Prédiction des positions et fréquences des délétions (Excel) ;
- Création de fichiers Circos permettant une visualisation graphique avec une identification rapide des délétions.

Les performances d'eKLIPse ont été évaluées sur des jeux de données simulées et des données de patients. Nous avons pu estimer les limites de détection d'eKLIPse en termes de taille de réarrangement (10 pb) mais également en termes d'hétéroplasmie (0,01%), et évaluer la spécificité de prédiction des points de cassure. L'analyse des données de patients présentant des délétions sporadiques ou multiples, liées à l'âge ou à une anomalie de maintenance de l'ADNmt (e.g. mutations *POLG*, *MFN2*), a permis de vérifier la reproductibilité des résultats, et de confirmer la capacité de l'outil à détecter des délétions de faibles hétéroplasmies, notamment des délétions multiples qui étaient indétectables jusqu'à présent.
Conclusions et perspectives
EKLIPse est un outil sensible et spécifique qui permet la détection et la quantification des délétions de l'ADNmt à partir des données de séquençage de type single-end, complétant notre stratégie de recherche des anomalies moléculaires de l'ADNmt par séquençage haut-débit. Cet outil dispose d'une interface graphique simple permettant de lancer les analyses et de visualiser les résultats de manière à faciliter son utilisation en routine.

P655 : La perte hétérozygote du codon d'initiation du gène codant le facteur de régulation d'épissage PTBP1 est responsable d'un nouveau syndrome polymalformatif

Auteurs :

Antonio Vitobello (1, 2), Rolph Pfundt (3), Frédéric Tran Mau-Them (1, 2), Laurence Duplomb (2), Ange-Line Bruel (1, 2), Yannis Duffourd (1, 2), Emilie Tisserant (2), Christophe Philippe (1, 2), Anne Boland (4), Robert Olaso (4), Jean-François Deleuze (4), Christel Thauvin-Robinet (2, 5), David Koolen (3), Carlo Marcelis (3), Laurence Faivre (5, 2)

1. UF Innovation en diagnostic génomique des maladies rares, laboratoire de Cytogénétique et Génetique Moleculaire, CHU Dijon, Dijon, France
2. UMR1231 GAD, INSERM, Dijon, France
3. Department of Human Genetics, Radboud University Nijmegen Medical Centre, Nijmegen, Pays-Bas
4. , Centre National de Recherche en Génomique Humaine (CNRGH), Institut de Biologie François Jacob, CEA, Evry, France
5. Centre de Référence maladies rares , Hôpital d'Enfants, FHU TRANSLAD, CHU Dijon, Dijon, France

Mots clefs : PTBP1, épissage, syndrome polymalformatif, contrôle post-transcriptionnel

Résumé :

L'introduction du séquençage d'exome haut débit (WES) dans la pratique clinique permet de réduire l'errance diagnostique de nombreuses familles atteintes de maladie génétique rare. Le WES en trio nous a permis d'identifier récemment une perte hétérozygote *de novo* du codon d'initiation du gène codant le facteur de régulation d'épissage PTBP1 chez une patiente présentant une déficience intellectuelle (DI) sévère, avec dysmorphie faciale, petite taille disproportionnée, brachydactylie et hyperlaxité des extrémités. Grâce au partage international des données (GeneMatcher, approche « génotype-first »), nous avons pu identifier deux autres patients avec la même variation. Le premier présente un phénotype superposable mais sans DI associée. Le second présente également une petite taille et un retard psychomoteur, associés à une hypoplasie du nerf optique, un syndrome pyramidal bilatéral, une hernie ombilicale et un déficit auditif congénital. Ce phénotype plus complexe pourrait être dû à la présence d'un variant dans un deuxième gène candidat.
Les mécanismes responsables de la régulation de l'expression des gènes font intervenir un grand nombre d'acteurs agissant au niveau pré- et post-transcriptionnel. Ils permettent une régulation spatio-temporelle, tant quantitative que qualitative, de l'expression des différents isoformes des ARNs. Cette régulation fine est essentielle au bon développent des différents types cellulaires, tissus et organes. Les protéines de la famille des « polypirimidine tract binding proteins » (PTBPs) interviennent dans la régulation de l'épissage des d'ARN pré-messager. La capacité à reconnaître les pré-ARNm leur permet d'opérer un épissage alternatif de certains exons de façon spécifique et, dans certaines cas, d'entraîner le mécanisme de contrôle par « nonsense-mediated decay (NMD)». Ceci permet un contrôle post-transcriptionnel de l'expression génique encore plus fin.
De précédentes études dans le modèle murin ont montré que la perte hétérozygote de la protéine ubiquitaire PTBP1, malgré la compensation partielle par la présence de PTBP2, entraîne des changements détectables du niveau d'expression de certaines transcrits alternatifs. Pourtant, les effets d'une telle variation chez l'homme n'ont pas été rapportés à ce jour. Nous présentons trois patients avec des éléments cliniques similaires et porteurs de la même variation probablement pathogène dans le gène *PTBP1.* Des études d'expression protéique sont en cours afin de confirmer l'haploinsuffisance et rechercher d'éventuelles protéines anormales générées par la création de codon(s) d'initiation alternatifs. Afin de caractériser les perturbations de l'épissage et le spectre de variabilité d'expression génique en lien avec l'haploinsuffisance du gène *PTPB1*, une étude globale du transcriptome a débuté chez ces trois patients par RNA-seq. Cette étude nous permettra également d'étudier les bases moléculaires de l'expressivité phénotypique variable de cette variation.

2018_01_assises_Vitobello_PTBP1.docx

P656 : GEMPROT : du vcf à la séquence protéique ou comment visualiser les combinaisons de variants génétiques susceptibles de modifier la fonctionnalité d'une protéine

Auteurs :

Tania Cuppens (1, 2), Thomas Ludwig (3, 1), Pascal Trouvé (1, 2), Emmanuelle Genin (1, 2)

1. UMR 1078, Inserm, Brest, France
2. , Université de Bretagne Occidentale , Brest, France
3. Génétique, CHRU Brest, Brest, France

Mots clefs : Variant, haplotype, protéine, domaine, visualisation

Résumé :

L'une des principales utilisations du séquençage de nouvelle génération est de rechercher des mutations responsables de maladies. Mais la plupart des outils d'annotations ou de prédictions d'effets traite les mutations une à une sans tenir compte des autres altérations au sein du gène présentes chez l'individu. Pourtant, il est possible que des mutations qui, prises individuellement n'ont aucun impact, aient des conséquences fonctionnelles importantes lorsqu'elles sont présentes en « cis » et qu'elles touchent par exemple un même domaine fonctionnel de la protéine ou deux domaines en interaction. Nous manquons cependant d'outils pour visualiser ces combinaisons de variants.
Nous présentons GEMPROT un nouvel outil d'analyse qui permet, à partir d'un fichier vcf phasé, de visualiser les conséquences des variations génétiques observées sur la protéine codée par le gène. A l'échelle d'un individu, le programme permet de visualiser les variations sur chacune des deux séquences protéiques codées et les différents domaines fonctionnels connus de la protéine qui sont reconstruits en utilisant pfam. Lorsque des données sur plusieurs individus sont disponibles, GEMPROT liste les différents haplotypes retrouvés dans l'échantillon et peut également comparer les distributions d'haplotypes entre différents sous-groupes d'individus au sein de l'échantillon.
En offrant une visualisation globale du gène avec les mutations génétiques présentes, GEMPROT permet de mieux appréhender l'impact de combinaisons de mutations sur la séquence protéique.

Resume_GEMPROT.pdf

P657 : Identification des CNVs par Whole-Exome-Sequencing avec l'algorithme XHMM (eXome Hidden Markov Model): expérience Dijonnaise.

Auteurs :

Emilie Tisserant (1), Julien Thevenon (2), Antonio Vitobello (3), Ange-Line Bruel (1), Serge Aho (4), Arthur Sorlin (1), Mirna Assoum (1), Nathalie Marle (5), Virginie Quéré-Carmignac (1), Sophie Nambot (6), Mathilde Lefebvre (6), Daphnée Lehalle (6), Frederic Tran Mau-Them (1), Christophe Philippe (3), Paul Kuentz (1), Marlène Poulleau (5), Martin Chevarin (3), Thibaud Jouan (1), Charlotte Poe (3), Christel Thauvin-Robinet (6), Laurence Faivre (6), Anne-laure Mosca-Boidron (3), Yannis Duffourd (1), Patrick Callier (3)

1. Inserm UMR 1231 GAD, Université de Bourgogne Franche-Comté, Dijon, France, DIJON, France
2. Centre de Génétique et Centre de Référence Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs de l'Interrégion Est, Centre Hospitalier Universitaire Dijon Bourgogne, 21079 Dijon, France, DIJON, France
3. Laboratoire de Génétique Chromosomique et Moléculaire, CHU DIJON, DIJON, France
4. Service d'épidémiologie et d'hygiène hospitalière, CHU DIJON, DIJON, France
5. Laboratoire de Génétique Chromosomique et Moléculaire, Centre Hospitalier Universitaire Dijon Bourgogne, 21079 Dijon, France, DIJON, France
6. Centre de Génétique et Centre de Référence Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs de l'Interrégion Est, CHU DIJON, DIJON, France

Mots clefs : Whole-Exome sequencing, CNVs, XHMM, CGH-array, anomalies du développement

Résumé :

Le séquençage haut-débit d'exome (WES) s'est massivement développé au cours de la dernière décennie pour identifier les variations génétiques responsables de maladies humaines, en particulier SNVs et indels. À ce jour, les CNVs (Copy Number Variation) sont diagnostiqués par CGH-array ou SNP-array avec une limite de détection inférieure d'environ 30kb. Le défi est maintenant de détecter à la fois SNVs et CNVs en utilisant une analyse unique à partir des données de WES. Plusieurs algorithmes ont été développés pour détecter les CNVs à partir des données de WES (Exome CNV, ConiFer, XHMM…). L'algorithme XHMM est optimisé pour l'identification de variations rares, en particulier des CNVs exoniques de moins de 30kb.
Nous avons initialement validé la performance de détection des CNVs avec l'algorithme XHMM à partir de 22 patients porteurs d'un CNV précédemment identifiés par CGH-array. Nous avons choisi 22 CNVs (détectés par le logiciel Cartagenia Bench Lab) allant de 28Kb à 17Mb dont 7 pathogènes et 15 VOUS. L'algorithme XHMM utilisé sur des données brutes de WES solo a retrouvé tous les CNVs pathogènes. Seulement 3 VOUS n'ont pas été détectés, car intronique ou avec un seul exon déviant détecté. La concordance entre les deux approches différentes (XHMM vs CGH-array) était élevée, avec un coefficient kappa de Cohen de 0.8764.
Nous avons ensuite appliqué l'algorithme XHMM sur les données de WES solo d'une cohorte de 350 patients atteints de troubles du développement (diagnostic et recherche), avec une CGH-array normale (4x180K Agilent). Nous avons identifié 5 CNV pathogènes, d'une taille allant de 685pb à 11kb (tous confirmés par qPCR), chez 5 patients (1,4%). Parmi eux, 4 patients présentaient des troubles du développement neurologique (délétions homozygotes de 4.5 kb du gène *PPT1*, 5kb du gène *PIGN*, 2.2kb du gène *CLCN2* et 1 délétion hétérozygote de 637pb du gène *TCF4*). Un patient atteint d'un syndrome de Cohen présentait une délétion hétérozygote de 11kb du gène *VPS13B* associée à un SNV. Pour deux patients, XHMM n'a pas détecté les délétions du gène *CLN3* (délétion de 1,1kb associé à un SNV et une délétion homozygote de 2,8kb), ces CNVs ont été suspecté par la clinique et visualisées de façon ciblée par IGV viewer.
Cette étude montre que l'algorithme XHMM a détecté, à partir des données de WES solo, non seulement l'ensemble des CNV pathogènes précédemment identifié par CGH-array, mais surtout des CNVs pathogènes non décelés par CGH-array chez 1.4% des patients. A noter que peu de limites techniques sont constatées, seulement lors d'une seule target déviante. Cette étude souligne l'intérêt majeur d'utiliser un algorithme dédié à l'identification des CNV lors de l'analyse des données de WES pour identifier SNVs et CNVs, en particulier ceux de moins de 30kb qui ne sont pas détectés par la CGH-array. Cette étude démontre également que l'analyse des données de WES avec l'algorithme XHMM pourrait-être utilisée en première intention pour la détection de CNVs.

P658 : Un panel partagé de témoins de référence pour la population française : le projet FrEx

Auteurs :

Thomas Ludwig (1, 2), Christian Dina (3, 4), Olivier Quenez (5, 6), Pierre Lindenbaum (3, 7), Joanna Giemza (8, 7), Benjamin Grenier-Boley (9, 10), Camille Charbonnier (5, 6), Céline Bellenguez (9, 10), Delphine Bacq (11), Doris Lechner (11), Anne Boland (11), Vincent Meyer (11), Stéphanie Chatel (3, 4), Karen Rouault (1, 2), Gaël Nicolas (5, 6), Claude Férec (1, 2), Hervé Le Marec (3, 4), Luc Letenneur (12, 13), Jean-François Dartigues (12, 13), Jean-Charles Lambert (9, 10), Dominique Campion (5, 6), Richard Redon (3, 4), Jean-François Deleuze (11), Emmanuelle Génin (2, 1)

1. Génétique, CHRU Brest, Brest, France
2. UMR-1078, INSERM, Brest, France
3. , Institut du Thorax, Nantes, France
4. UMR-1087, INSERM, Nantes, France
5. UMR-1245, INSERM, Rouen, France
6. Faculté de Médecine, Université de Rouen, Rouen, France
7. UMR-1087, INSERM, Brest, France
8. , Institut du Thorax, Brest, France
9. UMR-1167, INSERM, Lille, France
10. , Institut Pasteur, Lille, France
11. Centre National de Recherche en Génomique Humaine, CEA, Evry, France
12. UMR-1219, INSERM, Bordeaux, France
13. , Université de Bordeaux, Bordeaux, France

Mots clefs : témoin, base de données de variants, génétique des populations, test d'association

Résumé :

Le projet French Exome (FrEx) financé par France Génomique a permis de combler l'absence de données de séquences provenant de la population française. Ce projet de séquençage et génotypage sur puce d'exomes de 574 individus issus de 6 régions française a su mettre en évidence la spécificité géographique de certaines variations génétiques et l'intérêt de disposer d'une base de données représentative de nos régions. En effet, la recherche de variants génétiques impliqués dans des pathologies nécessite de filtrer les variants trop fréquents dans la population. Pour ce faire, une bonne concordance entre les origines des patients et des témoins est nécessaire. Les données FrEx, utilisées comme panel de référence dans des études impliquant des patients d'origine française, ont déjà participé à cibler avec succès des variants impliqués dans plusieurs types de pathologies. L'utilisation de ces données s'est faite jusqu'à présent dans le cadre de collaborations mais il est souhaitable que ces données puissent être partagées avec le plus grand nombre d'investigateurs tout en préservant leur confidentialité.
Pour rendre accessible les données FrEx dans un cadre protégé, nous avons développé une interface web qui permet de les parcourir de façon simple (http://med-laennec.univ-brest.fr/FrExAC/). L'utilisateur fournit une position ou région génomique, un identifiant dbSNP ou un nom de gène et peut consulter la liste de tous les variants identifiés chez les témoins de FrEx à ces positions. Pour chaque variant plusieurs informations sont disponibles, telles que la fréquence dans les différentes régions géographiques de FrEx, le nombre d'individus homozygotes pour ce variant, les effets du variant sur le transcrit et la protéine et la qualité de génotypage du variant. Un graphique indique à l'utilisateur la profondeur de couverture autour des positions souhaitées et montre la position des variants au sein du kit de capture utilisé. Cette interface permettra donc aux chercheurs de valider ou d'écarter rapidement un potentiel variant candidat. L'interface web de FrEx permet également de télécharger des données statistiques relatives à une liste de gènes sur leur charge en différents types de variants sélectionnés sur la base de leur fonctionnalité ou de leur fréquence. Ces données pourront alors être mises en rapport avec des données génétiques de patients pour rechercher s'il existe un enrichissement en variants rares dans le gène étudié chez les patients et réaliser un test d'association avec les variants rares.

P659 : Etude COMPASS : CaractérisatiOn Moléculaire en PrénatAl et postnatal par séquençage haut-débit des marqueurs chromosomiques SurnumérairesS et des translocations réciproques apparemment équilibrées de novo.

Auteurs :

Nathalie Marle (1), Anne-laure Mosca-Boidron (2), Antonio Vitobello (2), Jacques Puechberty (3), Julien Thevenon (4), Emilie Tisserant (5), Anne-marie Guerrot (6), Pascal Chambon (7), Geraldine Joly-Hélas (7), Agnès Guichet (8), Boris Keren (9), Valèrie Layet (10), Lucie Tosca (11), Sophie Brisset (12), Lionel Van Maldergem (13), Philippe Khau Van Kien (14), Martine Doco-Fenzy (15), Eva Pipiras (16), Claire Benneteau (17), jean-françois Deleuze (18), Robert Olaso (18), Anne Boland (18), Marlène Poulleau (1), Thibaud Jouan (5), Charlotte Poe (2), Christel Thauvin-Robinet (19), Laurence Faivre (19), Yannis Duffourd (5), Patrick Callier (2)

1. Laboratoire de Génétique Chromosomique et Moléculaire, Centre Hospitalier Universitaire Dijon Bourgogne, 21079 Dijon, France, DIJON, France
2. Laboratoire de Génétique Chromosomique et Moléculaire, CHU DIJON, DIJON, France
3. Service de Génétique Médicale, CHU Montpellier, Montpellier, France
4. Centre de Génétique et Centre de Référence Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs de l'Interrégion Est, Centre Hospitalier Universitaire Dijon Bourgogne, 21079 Dijon, France, DIJON, France
5. Inserm UMR 1231 GAD, Université de Bourgogne Franche-Comté, Dijon, France, DIJON, France
6. Service de Génétique Médicale, CHU Rouen, Rouen, France
7. Laboratoire de Cytogénétique, CHU Rouen, Rouen, France
8. Service de Génétique, Angers, Angers, France
9. Département de Génétique , Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France
10. Service de Génétique Médicale, CHU le Havre, Le Havre, France
11. Service d'Histologie Embryologie Cytogénétique, CHu Clamart, Clamart, France
12. Service d'Histologie Embryologie Cytogénétique, CHU Clamart, Clamart, France
13. Service de Génétique Médicale, CHU Besançon, Besançon, France
14. Centre de Génétique Médicale et Cytogénétique, CHU Nimes, Nimes, France
15. Service de Génétique Médicale, CHU Reims, Reims, France
16. Laboratoire de Cytogénétique, Hopital Robert debré, Paris, France
17. Service de Génétique Médicale, CHU Nantes, Nantes, France
18. Centre National de Recherche en Génomique Humaine (CNRGH), , Centre National de Recherche en Génomique Humaine (CNRGH), , Paris, France
19. Centre de Génétique et Centre de Référence Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs de l'Interrégion Est, CHU DIJON, DIJON, France

Mots clefs : Whole Genome, marqueurs chromosomiques surnuméraires, translocations

Résumé :

En période pré et postnatale, les marqueurs chromosomiques surnuméraires (sSMC) et les translocations réciproques apparemment équilibrées *de novo* sont mis en évidence par le caryotype. La présence de ces remaniements chromosomiques soulève, notamment au cours de la grossesse, une question difficile de pronostic en raison du risque de déficience intellectuelle. L'avènement des nouvelles technologies comme le séquençage haut-débit de génome (WGS) permet d'envisager la détection des variations du nombre de copies (CNV) et la caractérisation avec précision des points de cassure de ces remaniements. L'objectif du projet COMPASS est de mettre à profit le WGS afin d'identifier et caractériser les sSMC, les translocations réciproques et les remaniements chromosomiques complexes (RCC), et secondairement d'améliorer la pipeline.
Un WGS a été effectué chez 19 patients porteurs des variations structurales *de novo* (identifiés sur le caryotype et analysés par CGH-array) découvertes en postnatal pour 11 patients (2 sSMC homogènes dont l'un de 7Mb comprenant de l'euchromatine et le second avec seulement de l'hétérochromatine, 5 translocations et 4 RCC) et en prénatal 8 patients (2 sSMC homogènes dont l'un de 2.6Mb comprenant de l'euchromatine et le second avec que de l'hétérochromatine, 3 translocations et 3 RCC). L'analyse bioinformatique des données brutes a été réalisée avec les algorithmes Lumpy pour les translocations et inversions et ControlFreec pour les CNVs.
Les analyses montrent que 7/8 translocations sont identifiées, dont l'une interrompt le gène *GRIN2B* au point de cassure, ce qui était compatible avec le phénotype du patient. La translocation prénatale non détectée implique des points de cassure péricentromériques. Les 7 RCC sont identifiés avec, parfois, la découverte de plus de 10 points de cassure, en faveur d'un mécanisme type chromothrypsis. Les 2 sSMC, composés d'hétérochromatique péricentromérique, détectés uniquement par FISH, ne sont retrouvés ni par WGS ni par CGH-array. Le sSMC postnatal de 7Mb contenant de l'euchromatine, préalablement identifié par CGH-array, est détecté par WGS. En revanche, le sSMC prénatal constitué d'euchromatine de 2.6 Mb identifié par CGH-array n'est pas détecté par WGS.
L'utilisation du WGS s'avère donc particulièrement efficace pour caractériser les points de cassure des translocations et des RCC (14/15), en prénatal comme en postnatal. A noter que les 2 sSMC non retrouvés par WGS sont composés exclusivement

d'hétérochromatine péricentromérique, de même que l'un des points de cassure de la translocation réciproque non détectée. Pourtant, son utilisation dans les sSMC reste à discuter car un des 2 sSMC constitué d'euchromatine et d'une taille de 2.6Mb (sSMC du chromosome 20) n'a pas été détecté par WGS bien que ce CNV soit présent dans les données de séquençage. Le projet COMPASS nous a permis d'identifier les variations de structure et d'améliorer notre pipeline de WGS en prévision du plan France Génomique 2025.

P660 : Trisomie 13 en mosaïque avec dilatation sévère de la racine aortique et habitus marfanoïde lié à un mécanisme chromosomique inattendu.

Auteurs :

Pauline Monin (1, 2), Nicolas Reynaud (2), Audrey Putoux (1, 3), Nadine Hanna (4), Sophie Dupuis-Girod (1), Marianne Till (2, 1), Pauline Arnaud (4), Audrey Labalme (2), Eudeline Alix (2), Coline Poizat-Amar (1), Marie Faoucher (2), Lucie Ravella (2), Bernard Debost (5), Jean-François Obadia (6), Jean-Christophe Zech (7), Catherine Boileau (4), Damien Sanlaville (2, 3), Patrick Edery (1, 3), Caroline Schluth-Bolard (2, 3)

1. Service de Génétique - Unité de génétique clinique, Groupement Hospitalier Est - Hospices Civils de Lyon, Bron, France
2. Service de Génétique - Laboratoire de cytogénétique constitutionnelle, Centre de Biologie et de Pathologie Est - Hospices Civils de Lyon, Bron, France
3. GENDEV Team, Centre de Recherche en Neurosciences de Lyon, INSERM U1028; CNRS UMR5292; UCBL1, Bron, France
4. Département de Génétique et Centre National de Référence pour le Syndrome de Marfan et pathologies apparentées, Hôpital Xavier Bichat - Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Paris, France
5. Service de cardiologie pédiatrique, Groupement Hospitalier Est - Hospices Civils de Lyon, Bron, France
6. Service de chirurgie cardiaque, Hôpital cardiologique Louis Pradel - Hospices Civils de Lyon, Bron, France
7. Centre ophtalmologique Kléber, Centre ophtalmologique Kléber, Lyon, France

Mots clefs : Trisomie 13 en mosaïque, télomère interstitiel, bicuspidie aortique, dilatation de la racine aortique.

Résumé :

La trisomie 13 (T13), ou syndrome de Patau, est la 3ème trisomie autosomique la plus fréquente. Elle est caractérisée par un taux de mortalité élevé et précoce du fait d'une atteinte neurologique sévère associée à de multiples malformations congénitales. Il s'agit d'un syndrome rare dont la prévalence est estimée entre 1/10000 et 1/20000 naissances. Dans 5% des cas, il s'agit d'une T13 en mosaïque, généralement associée à un phénotype moins sévère et une survie plus prolongée.
Nous présentons le cas d'un garçon de 17 ans porteur d'une T13 en mosaïque diagnostiquée en ACPA réalisée dans la cadre d'un bilan de déficience intellectuelle associée à un syndrome polymalformatif incluant : une hexadactylie post-axiale, une cyphoscoliose, un spina occulta, une communication interventriculaire et des signes dermatologiques évocateurs d'un mosaïcisme cutané. Il présente par ailleurs une bicuspidie aortique et une large dilatation de la racine de l'aorte associées à un habitus marfanoïde.
L'analyse d'un panel de 23 gènes connus pour être impliqués dans le syndrome de Marfan et les pathologies apparentés n'a pas mis en évidence de variant pathogène.
L'ACPA a montré la présence d'un gain en mosaïque faible (11%) pour l'ensemble des bras longs du chromosome 13.
Le caryotype constitutionnel a mis en évidence la présence d'un dérivé de translocation non réciproque entre les bras longs d'un chromosome 13 et l'extrémité des bras courts d'un chromosome 10, réalisant une T13 non libre dans 15% des cellules étudiées. Ce dérivé est hérité de la mère et de la grand-mère maternelle, chez qui il est présent de façon homogène, réalisant une formule chromosomique équilibrée à 45 chromosomes.
La caractérisation en FISH a mis en évidence la présence de séquences télomériques interstitielles à la jonction entre les deux chromosomes.
Les télomères interstitiels sont des séquences télomériques présentes dans les portions intra-chromosomiques. En dehors de certaines marques de notre évolution, leur présence traduit des remaniements chromosomiques individuels.
Afin de comprendre le mécanisme ayant mené à la mosaïque, une étude des marqueurs microsatellites a permis d'éliminer une chimère, et une puce SNP-Array n'a pas montré d'isodisomie. Le mécanisme le plus probable est donc lié à l'instabilité du télomère interstitiel au niveau duquel est survenue une cassure, entrainant la perte du fragment acentrique dérivé des bras longs du chromosome 13 et la conservation du chromosome 10 intact.
En l'absence de luxation du cristallin et de mutation identifiée sur le panel de gènes impliqués dans le syndrome Marfan et les syndromes apparentés, l'hypothèse d'un syndrome de Marfan est peu probable et on peut supposer que le phénotype cardiaque est lié au remaniement chromosomique. En effet, plusieurs loci sur le bras long du chromosome 13 ont été associés à des anomalies aortiques incluant bicuspidie et dilatation. Ainsi, nous conseillons de surveiller l'aorte chez les patients porteurs de T13.

abstract assises 2018 - P. MONIN - T13 en mosaique.docx

P661 : Syndrome d'interruption de la tige pituitaire dans le syndrome Kabuki : à propos de deux cas et revue de la littérature

Auteurs :

Aline Vincent (1), Vincent Gatinois (2), Amélie Favreau (3), Chantal Metz (4), Marie Legendre (5), Christèle Dubourg (6), Serge Amselem (5), David Geneviève (7), Annick Toutain (1)

1. Service de Génétique, CHU de Tours, Tours, France
2. Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU de Montpellier, Montpellier, France
3. Service de Néonatalogie, CHU de Tours, Tours, France
4. Service de Pédiatrie, CHU de Brest, Brest, France
5. Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU Trousseau, Paris, France
6. Laboratoire de Génétique Moléculaire et Génomique Médicale, CHU de Rennes, Rennes, France
7. Département de Génétique Médicale, CHU de Montpellier, Montpellier, France

Mots clefs : Syndrome d'interruption de la tige pituitaire, syndrome kabuki

Résumé :

Le syndrome Kabuki (SK) est un syndrome rare caractérisé par une dysmorphie faciale, de multiples anomalies congénitales, une déficience intellectuelle et un retard de croissance qui est retrouvé chez 50% des patients. La cause de la petite taille chez ces patients n'a pas été totalement élucidée. Quelques patients présentant une anomalie endocrinienne de l'axe hypothalamo-hypophysaire ont été décrits dans la littérature et seulement 3 patients ayant une malformation de la glande pituitaire ou de l'hypothalamus, dont 2 avec un syndrome d'interruption de la tige pituitaire, ont été rapportés jusqu'à maintenant. Nous présentons 2 patients avec un SK et un syndrome d'interruption de la tige pituitaire.
Le premier s'est présenté avec une hypoglycémie néonatale persistante sans hyperinsulinisme, mais avec déficit en GH et en ACTH. Une IRM cérébrale faite à l'âge de 13 jours a montré un syndrome d'interruption de la tige pituitaire avec une post-hypophyse ectopique et une absence de tige pituitaire. La recherche de mutations dans les gènes *HESX1*, *SOX2* and *OTX2* s'est révélée négative de même que l'analyse d'un panel de 21 gènes d'holoprosencéphalie. Le diagnostic de SK a été évoqué à l'âge de 21 mois sur l'association d'une microcéphalie à -3 DS, une hypotonie avec retard global de développement psychomoteur, un syndrome dysmorphique caractéristique et un ensemble malformatif évocateur (dents néonatales, luette bifide, colobome bilatéral, CIA et CIV, brachydactylie et clinodactylie des 5èmes doigts). Il a été confirmé par la mise en évidence d'une mutation faux-sens hétérozygote du gène *KMT2D* (c.15142C>T ; p.[Arg5048Cys]) survenue *de novo* et déjà rapportée dans la littérature.
La deuxième patiente est née après une grossesse marquée par la mise en évidence d'une hyperclarté nucale à 5,2 mm et une ascite foetale. Elle a également présenté des hypoglycémies néonatales sans hyperinsulinisme mais avec déficit en GH en rapport avec un syndrome d'interruption de la tige pituitaire. Elle présente par ailleurs un syndrome dysmorphique typique de SK, des pulpes digitales en goutte, une brachydactylie et clinodactylie des 5èmes doigts, un strabisme, des agénésies dentaires, une CIA, un déficit en IgA et IgG et un retard global de développement avec épilepsie. Le diagnostic de SK a également été confirmé par la mise en évidence d'une mutation hétérozygote du gène *KMT2D* (c.6325C>T, p.[Gln2109*]).
Ces nouveaux cas, combinés à ceux de la littérature, soulignent le fait que les anomalies de l'axe hypothalamo-hypophysaire doivent être recherchées et qu'une imagerie de la tige pituitaire doit être effectuée chez tous les patients atteints du SK qui présentent un retard de croissance et/ou un bilan endocrinien anormal. Un diagnostic précis et précoce est important pour la prise en charge des patients puisqu'un rattrapage de croissance peut être obtenu par hormone de croissance et que les autres complications médicales peuvent être évitées.

P662 : Seule l'approche « genotype first » a permis l'identification de nouvelles mutations du gène BRWD3.

Auteurs :

Julian DELANNE (1, 2), Magalie LECAT (1), Patrick BLACKBURN (3, 4), Eric KLEE (5), Constance STUMPEL (6), Sander STEGMANN (7), Servi STEVENS (6), Maureen MULHERN (8), Caroline NAVA (9), Delphine HERON (9), Boris KEREN (9), Sonal DESAI (10), Sakkubai NAIDU (10), Dusica BABOVIC-VUKSANOVIC (11), Charlotte POE (12), Martin CHEVARIN (12), Thibaud JOUAN (12), Julien THEVENON (13), Paul KUENTZ (14), Emilie TISSERAND (12), Yanis DUFFOURD (12, 15), Christophe PHILIPPE (12, 16), Laurence FAIVRE (1, 12), Christel THAUVIN-ROBINET (1, 12)

1. Centre de génétique - Centre de référence des maladies rares, anomalies du développement et syndromes malformatifs, CHU Dijon, Dijon, France
2. Université de Bourgogne Franche Comté UMR 1231, INSERM, UMR1231 Equipe GAD, Génétqiue des anomalies du développement, Dijon, France
3. Center for individualized Medicine, Mayo Clinic, Jacksonville, Etats-Unis
4. Center for individualized medicine, Mayo Clinic, Jacksonville, Etats-Unis
5. Departement of health sciences research, Mayo Clinic, Rochester, Etats-Unis
6. Department of Clinical Genetics and School for Oncology and Developmental Biology (GROW), , Maastricht University Medical Center, Maastricht, Pays-Bas
7. Department of Clinical Genetics and School for Oncology and Developmental Biology (GROW), Maastricht University Medical Center, Maastricht, Pays-Bas
8. Institute for Genomic Medicine, Columbia University, New York, Etats-Unis
9. Département de génétique, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Paris, France
10. Department of Neurogenetics, Kennedy Krieger Institute, Baltimore, Etats-Unis
11. Departement of medical genetics, Mayo Clinic, Rochester, Etats-Unis
12. Gentique des anomalies du développement, INSERM, UMR1231 Equipe GAD, Génétqiue des anomalies du développement, Dijon, France
13. Génétique Clinique, Center Hospitalier Universitaire Grenoble Alpes, Grenoble, France
14. Génétique biologique Histologie, Biologie du développement et de la reproduction, CHRU Hôpital Jean Minjoz, Besançon, France
15. FHU Translad, CHU de Bourgogne Franche-Comté, Dijon, France
16. Laboratoire de génétique moléculaire et de Cytogénétique, Plateau Technique de Biologie, CHU Dijon, Dijon, France

Mots clefs : BRWD3, Phenotype, Genotype First, Déficience intellectuelle, Macrocéphalie, Dysmorphie

Résumé :

Le gène *BRWD3* code pour une protéine contenant un bromodomaine et plusieurs répétitions WD. Chez la drosophile la protéine *dBRWD3* interagit avec un complexe protéique qui agit sur l'histone H3.3, permettant ainsi de moduler l'expression de gènes impliqués dans le développement du système nerveux. Depuis 2007, le phénotype associé aux mutations de *BRWD3* n'a été rapporté que dans 2 familles supplémentaires. Initialement ces mutations ont été impliquées dans un phénotype aspécifique associant macrocéphalie et déficience intellectuelle (DI). Du fait de ce phénotype aspécifique seul une approche « génotype first » a permis l'identification de nouveaux variants. L'utilisation du séquençage haut débit d'exome associé aux outils de partage international de données, a permis d'identifier six nouveaux patients (4 masculins et 2 féminins), non apparentés, mutés dans *BRWD3*.
Parmi les patients de sexe masculin, 1 présentait un variant en mosaïque. Une étude du biais d'inactivation de l'X chez 1/2 patiente a retrouvé un biais d'inactivation de 100% en faveur de l'allèle muté. En colligeant les 9 patients précédemment décrits, nous avons comparé le phénotype de 13 patients de sexe masculin et de 2 de sexe féminin présentant un variant pathogène dans le gène *BRWD3*, soit 10 variants différents incluant 6 tronquants et 4 faux-sens.
Chez les patients masculins (à l'exception de celui avec un variant en mosaïque), les particularités phénotypiques les plus fréquentes comprenaient : une DI (11/12), un retard de langage (11/12), une macrocéphalie avec un front proéminant (9/12), un visage allongé avec un menton pointu (8/12), une timidité (6/12), des doigts ou orteils larges (6/12) et de grandes oreilles (5/12). Les 2 patientes présentaient une macrocéphalie, un retard de langage et une épilepsie, qui n'était retrouvée que chez un seul patient masculin. Parmi ces 15 cas, 10 cas masculins étaient hérités d'une mère saine, et 5 étaient survenus *de novo*, incluant les 2 patientes et le patient masculin avec le variant en mosaïque. Parmi les patients masculins, les 8 variants décrits incluaient 3 décalages du cadre de lecture (dont 1 en mosaïque), 1 stop prématuré, 1 délétion partielle et 3 faux sens. Une patiente présentait un variant décalant le cadre de lecture, l'autre un faux-sens avec un biais d'inactivation de l'X complet. La macrocéphalie était absente chez les patients avec les variants faux-sens mais présente chez les patients avec les variants tronquants.
Cette étude montre que le phénotype des mutations du gène *BRWD3* qui associe principalement DI, troubles du comportement et macrocéphalie, peut être retrouvé à la fois chez les patients masculin et féminin. Ce phénotype reste cependant aspécifique

et difficile à reconnaitre pour les cliniciens et seule une approche « genotype first » a permis l'identification de ces mutations. Cet approfondissement de la description clinique trouvera son utilité dans un contexte de « reverse phenotyping ».

2018_01_assises_Delanne_BRWD3.docx

P663 : Identification de variations exoniques à l'origine de défauts d'épissage : applications en génétique médicale à l'ère du séquençage à haut débit

Auteurs :

Hélène Tubeuf (1, 2), Omar Soukarieh (1), Camille Le Clézio (1), André Blavier (2), Thierry Frébourg (1, 3), Pascaline Gaildrat (1), Alexandra Martins (1)

1. Inserm U1245, UNIROUEN, Normandie Univ, Centre Normand de Génomique Médicale et de Médecine Personnalisée, Rouen, France
2. , Interactive Biosoftware, Rouen, France
3. Département de Génétique, CHU de Rouen, Normandie Univ, Centre Normand de Génomique Médicale et de Médecine Personnalisée, Rouen, France

Mots clefs : Séquençage d'exomes, interprétation des variations génétiques, régulation de l'épissage le l'ARN, prédictions bioinformatiques, tests fonctionnels

Résumé :

Un des défis majeurs en génétique médicale est l'interprétation biologique et clinique des variations de signification inconnue (VSI) identifiées dans le génome des patients. Cette problématique est particulièrement importante surtout dans cette nouvelle ère de séquençage à haut débit.
En théorie, toute VSI (intronique ou exonique) est potentiellement susceptible d'affecter l'épissage de l'ARN, soit en modifiant les sites d'épissage, soit en altérant des éléments de régulation. Etant donné le grand nombre de VSI identifiées, toutes ne peuvent pas faire l'objet d'une analyse fonctionnelle. Il est donc essentiel aujourd'hui d'établir des stratégies de stratification basées sur des prédictions *in silico* afin de sélectionner les variations à tester en priorité par des approches expérimentales. Toutefois, et contrairement aux altérations sur les sites d'épissage, les changements au niveau des éléments exoniques régulateurs d'épissage (ESR) sont très difficiles à appréhender par les méthodes bioinformatiques actuellement disponibles.
Dans ce contexte, des travaux récents de notre laboratoire sur un jeu de données comprenant 154 variations sur 5 gènes différents ont révélé que : (i) le nombre de variations exoniques provoquant des défauts d'épissage est plus important que celui initialement estimé et (ii) l'impact de ces variations peut être prédit par deux nouvelles approches *in silico* axées sur les ESR.
Ici, nous validons ces deux approches s sur un jeu de données plus large (~1000 variations localisées dans 89 gènes associés à différentes pathologies). De plus, nous avons intégré deux autres nouvelles méthodes à notre stratégie d'analyse bioinformatique. La fiabilité de ces 4 méthodes a été déterminée par comparaison des données obtenues *in silico* avec celles issues d'analyses expérimentales basées sur des « tests minigènes » ou effectuées à partir de l'ARN de patients. De façon importante, nos résultats montrent que, en général, ces quatre outils permettent l'identification de mutations d'épissage touchant des ESR potentiels. Nous avons aussi déterminé la meilleure façon de les combiner afin d'augmenter la spécificité et la sensibilité de notre stratégie. Enfin, nous avons entrepris une étude prospective focalisée sur des variations pas connues pour leurs effets sur l'épissage, décrites dans les gènes *MSH2* et *MAPT*, avec des résultats très probants.
Ces travaux soulignent le potentiel des approches *in silico* en tant qu'outils de filtration pour prioriser les VSI à analyser dans des tests fonctionnels axés sur l'épissage. Cette stratégie peut aider à l'identification de variations pathogènes parmi la multitude de variations détectées par séquençage à haut débit. Nos résultats pourront ainsi avoir d'importantes implications dans toute autre maladie d'origine génétique.

P664 : Adénomes hypophysaires isolés familiaux : stratégie pour l'identification d'une nouvelle cause génétique

Auteurs :

Elias Barrak (1, 2)

1. INSERM, CNRS, Université de Nantes, L'Institut du Thorax, Nantes, France
2. Service d'Endocrinologie - Diabètologie - Nutrition, CHU de Nantes, Nantes, France

Mots clefs : adénome, hypophyse, AIP, exome, EGF

Résumé :

Les adénomes hypophysaires peuvent être syndromiques dans le contexte de néoplasies endocriniennes multiples (NEM1 ou NEM4) ou isolées (adénomes hypophysaires isolés familiaux / FIPA). Les FIPA sont dus à des mutations d'*AIP* dans 15% des cas, mais dans plus de 80% des cas la cause génétique demeure inconnue.
Nous avons étudié une famille nantaise avec cinq membres atteints de FIPA sur le plan génétique et clinique. Le cas index présentait en 2009 un adénome à prolactine mesurant 28 mm avec un bilan phosphocalcique normal. Devant l'évolution clinique agressive, le diagnostic d'adénocarcinome hypophysaire (forme très rare, 0,1 à 0,2% des adénomes hypophysaires) a été évoqué. Deux membres atteints d'adénome hypophysaire dans la famille présentent d'autres atteintes endocriniennes comme une hyperparathyroïdie primaire et des tumeurs neuro-endocrines. L'analyse ciblée des gènes candidats a identifié trois variants dans les gènes *MEN1, CDKN1B* et *AIP*, mais l'analyse de co-ségrégation suggère qu'ils ne seraient pas causals. Le séquençage d'exome chez deux patients atteints de la famille a identifié 21 variants. Après les analyses de ségrégation et de liaison génétique d'identité par descendance dans la famille, trois gènes s'avèrent être des candidats potentiels. L'un est particulièrement attractif, étant donné son implication dans la voie de signalisation de l'EGF. Afin de confirmer l'implication de ces gènes dans la physiopathologie des FIPA, d'une part nous étudions la conséquence fonctionnelle des variants identifiés par des expériences de mutagénèse dirigée dans des lignées cellulaires. Par ailleurs, nous testons actuellement la présence de ces variants chez des probands atteints de FIPA sans cause génétique identifiée.
L'ensemble des résultats permettra de découvrir l'implication d'un nouveau gène responsable de FIPA, ce qui ouvrira de nouvelles perspectives thérapeutiques pour le développement de thérapies ciblées.

P665 : Implication de gènes de formes syndromiques de fente labiale et/ou palatine dans les formes non-syndromiques

Auteurs :

BENEDICTE DEMEER (1, 2), BENEDICTE DEMEER (3, 2), Mirta Basha (2), Nicole Revencu (4, 2), Odile Boute (5), Michèle Mathieu-Dramard (6), Raphael Helaers (2), Geneviève François (7), Bénédicte Bayet (8), Bernard Devauchelle (9), Miikka Viikkula (2, 10)

1. unité de génétique clinique, CLAD Nord de France / EA 4666, NCHU Amiens-Picardie / Université de Picardie Jules Verne , Amiens, France
2. Laboratoire de génétique moléculaire humaine, institut de Duve, Université Catholique de Louvain, Bruxelles, Belgique
3. unité de génétique clinique, CLAD Nord de France / EA 4666, Bénédicte Demeer, Bruxelles, belgique, France
4. Centre de génétique humaine, Cliniques universitaires Saint Luc, Bruxelles, belgique, Belgique
5. Departement de génétique humaine, CLAD Nord de France, CHRU Lille, lille, France
6. Unité de génétique clinique, CLAD Nord de France, CHU Amiens-Picardie, Amiens, France
7. Département de pédiatrie, Cliniques universitaires Saint Luc, Bruxelles, Belgique
8. Centre labiopalatin, Cliniques universitaires Saint Luc, Bruxelles, Belgique
9. Département de Chirurgie maxillo-faciale, CHU amiens, Amiens, France
10. centre de génétique humaine, Cliniques universitaires Saint Luc, Bruxelles, Belgique

Mots clefs : fentes labiale et/ou palatine non syndromique, WES, héritabilité manquante

Résumé :

Les fentes labiales avec ou sans fente palatine (FL/P) et les fentes palatines seule (FP). sont les plus fréquentes des malformations craniofaciales congénitales avec une incidence d'environ 1/700. .Elles sont réparties en forme syndromique, le plus souvent associée à une transmission mendélienne, et en forme non syndromique (ns), c'est-à-dire sans autre anomalies associées. . Pour les formes non syndromiques majoritaires, dont environ 20 % sont familiales, une origine multifactorielle est le plus souvent retenue avec une interaction complexe entre facteurs environnementaux et facteurs génétiques
A ce jour, l'utilisation de multiples approches génétiques, souvent complémentaires : étude de liaison, d'association, de modèles animaux, d'anomalie chromosomique ou étude du rôle de facteurs connus dans les formes syndromiques de fentes n'ont permis l'identification que d'un nombre limité de gènes ou de loci chromosomiques impliqués dans les formes non-syndromiques .
Afin d'identifier des variants génétiques impliqués les formes non syndromiques, une sélection de patients issus de formes familiales (12 familles avec FP, 10 avec FL/P, 2 avec insuffisance vélaire) et 6 cas isolés de FP ont été étudiés par séquençage haut débit d'exome.
Plusieurs variants probablement délétères ont été identifiés dans 5 familles: au sein du gène *TBX1* (1 famille), *TP63* (1 famille), *GHRL3* (2 familles), et *LRP6* (1 famille). Une réévaluation et mise à jour des données cliniques ont permis de confirmer le caractère isolé des fentes avec une expressivité variable chez les patients atteints, ainsi qu'une pénétrance incomplète par l'observation de patients porteurs non atteints.
Cette étude est en faveur de l'implication des gènes de formes syndromiques dans les formes non-syndromiques. Elle interpelle quant à la contribution de ces variants pour une part importante dans l'héritabilité manquante des formes non syndromiques.
Les données de séquençage haut débit d'exome d'une nouvelle sélection de patients sont en cours d'interprétation.

assises génétique 2018_BD.docx

P666 : Exclusion spontanée d'exon permettant d'échapper à un arrêt prématuré de la traduction de CEP290 chez deux individus atteints d'une dystrophie rétinienne inhabituelle modérée

Auteurs :

Iris Barny (1), Isabelle Perrault (1), Sophie Thomas (2), Tania Attié-Bitach (2), Christian Hamel (3, 4), Hélène Dollfus (5), Josseline Kaplan (1), Jean-Michel Rozet (1), Xavier Gérard (1)

1. Laboratoire de Génétique en Ophtalmologie, Institut Imagine - Université Paris Descartes, Paris, France
2. Laboratoire d'Embryologie et de Génétique des Malformations Congénitales, Institut Imagine - Université Paris Descartes, Paris, France
3. Centre de Références des Maladies Sensorielles Génétiques, CHU-Saint Eloi Montpellier, Montpellier, France
4. Institut des Neurosciences de Montpellier, CHU-Saint Eloi Montpellier, Montpellier, France
5. Centre de référence pour les affections génétiques ophtalmologiques CARGO, CHRU Strasbourg, Strasbourg, France

Résumé :

Introduction : *CEP290* code une protéine de 290 KDa essentielle pour l'assemblage et la maintenance des cils primaires et motiles dans un grand nombre de systèmes cellulaires. Les mutations bialléliques de ce gène sont l'une des principales causes de l'amaurose congénitale de Leber, ACL10. Cette forme d'ACL est caractérisée par une malvoyance très profonde à la naissance avec nystagmus, photophobie et performances visuelles ne dépassant pas une perception de la lumière. Récemment, nous avons identifié des mutations *CEP290* tronquantes, respectivement homozygote et hétérozygotes composites (p.Ile556Phefs*17 et p.Lys170* + p.Glu1364), chez deux individus non apparentés atteints d'une dystrophie rétinienne bien plus modérée (absence de nystagmus et de photophobie, acuité visuelle de 3/10 et 6/10 à 18 ans et 33 ans, respectivement). Notre étude visait à comprendre les bases moléculaires de ces observations.
Matériel et méthodes : L'ARNm et la protéine CEP290 ainsi que l'intégrité du métabolisme ciliaire ont été analysés dans des lignées de fibroblastes des deux individus et de contrôles.
Résultats : Nous avons mis en évidence dans les fibroblastes des deux individus, l'existence de transcrits alternatifs du gène *CEP290* dont le séquençage a révélé l'exclusion des exons codant un stop prématuré. Ces exclusions spontanées, absentes dans les lignées contrôles, conduisaient à un rétablissement du cadre de lecture, objectivé par l'identification d'une protéine aux alentours de 290 kDa par Western Blot. Cette protéine conserve tout ou partie de ses interactions ainsi que nous l'avons révélé par BN-PAGE et immunomarquages. Enfin, le nombre et la taille des cils étaient identiques dans les lignées des patients et des contrôles.
Conclusion : Le saut spontané des exons porteurs de codons stop prématurés a permis la production d'ARNm conservant un cadre de lecture ouvert, et la traduction d'une protéine CEP290 permettant une ciliogénèse en apparence normale. Ces données contrastent avec l'altération significative de la ciliation (nombre et taille des cils) dans les fibroblastes des individus atteints d'une ACL traditionnelle, porteurs de la mutation intronique profonde récurrente du gène. L'étude présentée ici suggère que certains exons de *CEP290* sont dispensables faisant de ce gène une cible privilégiée pour les thérapies de saut d'exon.

Abstract Assises 2018_Iris Barny.pdf

P667 : Identification et analyse fonctionnelle de la première insertion Alu responsable de choroïdérémie.

Auteurs :

Christel Vaché (1), Simona Torriano (2, 3), Valérie Faugère (1), David Baux (1), Christian Hamel (4, 2), Nejla Erkilic (2, 3), Michel Koenig (1, 5), Vasiliki Kalatzis (2, 3), Anne-Françoise Roux (1, 5)

1. Laboratoire de génétique moléculaire, CHU Montpellier, Montpellier, France
2. INSERM U1051, Institut des Neurosciences de Montpellier, Montpellier, France
3. , Université de Montpellier, Montpellier, France
4. Centre de référence des affections sensorielles d'origine génétique, CHU Montpellier, Montpellier, France
5. Laboratoire de génétique des maladies rares EA 7402, Université de Montpellier, Montpellier, France

Mots clefs : choroïdérémie, CHM, séquence Alu, rétrotransposition, prénylation

Résumé :

La choroïdérémie est une maladie rare liée à l'X caractérisée par une dégénérescence progressive de la choroïde, de l'épithélium pigmentaire de la rétine et de la rétine. Cette pathologie est exclusivement liée au gène *CHM* qui code pour la protéine REP1 (Rab Escort Protein-1) impliquée dans la prénylation de protéines Rab GTPases, éléments clef du trafic cellulaire et de la dynamique des membranes.
Le spectre mutationnel du gène *CHM* est essentiellement composé de mutations ponctuelles (insertions ou délétions de bases et substitutions) et de grandes délétions pouvant englober la totalité du gène. Actuellement une seule étude rapportant le cas d'un grand réarrangement du gène *CHM* par insertion d'un élément transposable LINE-1 (Long Interspersed Nuclear Element-1) a été décrite.

Nous présentons ici les résultats des analyses moléculaires réalisées chez un patient atteint de choroïdérémie chez qui a été identifié pour la première fois l'insertion d'un élément Alu dans le gène *CHM*.

L'étude de l'ADN du patient par amplification et séquençage des 15 exons du gène *CHM* a révélé l'insertion d'une séquence Alu, appartenant à la famille Ya5, dans l'exon 7. Celle-ci est encadrée par deux répétitions directes créées lors de son mécanisme d'intégration via l'action d'une endonucléase L1 suivie d'une rétro-transcription de l'ARN Alu. Par rapport à la séquence AluYa5 consensus, cette séquence insérée présente une délétion de 38 paires de bases dans sa partie 5' terminale qui reflète une rétrotranscription inachevée pouvant être liée à la présence d'une micro-homologie de deux paires de bases. L'analyse des transcrits *CHM*, à partir de prélèvements de sang ou de fibroblastes en culture du patient, montre que cette insertion Alu donne lieu à la synthèse de deux populations d'ARN messagers. Chaque population ayant en commun une délétion partielle de l'exon 7 suivie d'une insertion de 29 ou 61 paires de bases de l'élément Alu en fonction du site donneur de la séquence Alu utilisé. Des études de quantification des transcrits issus des fibroblastes du patient permettent d'estimer une diminution du taux des transcrits *CHM* de l'ordre de 80% par rapport à un individu témoin. La quantité de protéine REP1, estimée par Western blot, est quant à elle diminuée de 97%. Un défaut de prénylation ainsi qu'une augmentation par un facteur 9 de la quantité des protéines Rab cytoplasmiques sont également constatés au niveau des fibroblastes du patient. Ces résultats, observés au niveau des transcrits *CHM* et des protéines REP1 et Rab, s'inscrivent dans les données déjà rapportées pour les mutations par perte de fonction du gène *CHM.*
Bien qu'ils soient sans doute sous-estimés, les éléments transposables responsables de pathologies restent rares. En considérant l'insertion LINE déjà décrite, la mutation par perte de fonction AluYa5 que nous avons caractérisée représente le second événement mutationnel par rétrotransposition identifié dans le gène *CHM*.

résumé CHM assises 2018.docx

P668 : Associated anomalies in cases with esophageal atresia

Auteurs :

Claude Stoll (1), Yves Alembik (1), Béatrice Dott (1)

1. Service de Génétique Médicale, Faculté de Médecine, Strasbourg, France

Mots clefs : congenital anomalies; congenital malformations; esophageal atresia; tracheooesophageal fistula; VACTERL association

Résumé :

Esophageal atresia (EA) is a common type of congenital anomaly. The etiology of esophageal atresia is unclear and its pathogenesis is controversial. Infants with esophageal atresia often have other non-EA associated congenital anomalies. The purpose of this investigation was to assess the prevalence and the types of these associated anomalies in a defined population. The associated anomalies in cases with EA were collected in all livebirths, stillbirths and terminations of pregnancy during 29 years in 387,067 consecutive births. Of the 116 cases with esophageal atresia, representing a prevalence of 2.99 per 10,000, 54 (46.6%) had associated anomalies. There were 9 (7.8%) cases with chromosomal abnormalities including 6 trisomies 18, and 20 (17.2%) nonchromosomal recognized dysmorphic conditions including 12 cases with VACTERL association and 2 cases with CHARGE syndrome. Twenty five (21.6%) of the cases had multiple congenital anomalies (MCA). Anomalies in the cardiovascular, the digestive, the urogenital, and the musculoskeletal, were the most common other anomalies. The anomalies associated with esophageal atresia could be classified into a recognizable malformation syndrome or pattern in 29 out of 54 cases (53.7 %). This study included special strengths: each affected child was examined by a geneticist, all elective terminations were ascertained, and the surveillance for anomalies was continued until 2 years of age. In conclusion the overall prevalence of associated anomalies, which was close to one in two cases, emphasizes the need for a thorough investigation of cases with EA. A routine screening for other anomalies may be considered in cases with EA.

P669 : jvarkit-burden: Une suite d'outils en java manipulant des fichiers VCF dans le cadre de tests d'association de variants rares (tests de type 'burden')

Auteurs :

Pierre Lindenbaum (1), Matilde Karakachoff (1), Elodie Persyn (1), Christian Dina (1), Richard Redon (1)

1. Génétique, L'institut du thorax, INSERM, CNRS, UNIV Nantes, CHU Nantes, Nantes, France

Mots clefs : bioinformatique,population,burden,java,outil,pipeline,association

Résumé :

Les tests d'association par sequençage du génome-entier permettent d'identifier les variants rares ou peu frequents potentiellement impliqués dans les maladies complexes. Des nombreaux tests ont été decrit dans la litterature qui peuvent être appliqués à la recherche d'alleles rares de susceptibilité. Parmi ceux-la, les tests de type 'burden' (CAST) et les tests basés sur la decomposition de la variance (SKAT, SKATO) sont aujourd'hui les plus utilisés. Un passage preliminaire mais fondamentale dans l'application dedites tests est la selection de variants à analyser et la definition de groupes de variants, les regions genomiques sur lequels le test sera appilqué.
A cet effet, le statisticien doit transformer et filtrer des fichiers de génotypes, typiquement des fichiers VCF (variant-call-format), afin de les traiter par des 'packages' spécifiques du language 'R', telle que le package 'SKAT'.
La filtration des fichiers VCF nécéssite de nombreuses étapes telle que la découpe des VCFs par gène, par transcrit ou par fenetre coulissante, l'ajout d'annotations (par exemple ajouter les féquences alléliques de Gnomad, ajouter des critères de conservation inter-espèce, etc...) permettant d'écarter les variants connus et fréquents, la selection des variants en fonction de leur conséquence sur le gène, le calcul des fréquences alléliques en fonction des populations de cas et de témoins, etc....
Nous avons mis au point une suite d'outils permettant de manipuler les VCFs dans le cadre de tests d'association de variants rares. Cette suite d'outils intégré dans la suite logicielle 'jvarkit' a été devéloppée en java et utilise la librairie 'java pour l'analyse des données à haut-débit' (htsjdk). La modularité de ces outils permet de les ajouter facilement dans un pipeline et de les utiliser dans un environement parallelisable.
Une fois la selection de variants effectuée, il est possible d'utilliser une fonction permettant de trasformer les données à partir du vcf et d'appliquer un certain nombre de tests existants dans la litterature. CAST, SKAT, SKAT-O, KBAC et DoEstRare sont les tests actuellement utilisables.
Nous démontrons l'éfficacité des ces outils dans le cadre d'un test 'burden' sur le syndrome de Brugada portant sur les résultats de plus de 700 séquençages de génomes entiers où nous retrouvons le gène 'SCN5A' , connu pour être impliqué dans la maladie.
Les outils et le code source sont disponibles sur : https://github.com/lindenb/jvarkit

P670 : Nouveaux variants de BLOC1S3/HPS8 responsables d'une forme très rare et modérée d'albinisme syndromique

Auteurs :

Perrine Pennamen (1, 2), Angela TINGAUD-SEQUEIRA (2), Vincent MICHAUD (1), Claudio PLAISANT (1), Fanny MORICE-PICARD (3), Catherine VINCENT-DELORME (4), Fabienne GIULIANO (5), Saba AZARNOUSH (6), Eulalie LASSEAUX (1), Benoit ARVEILER (2, 1)

1. Génétique Biologique, CHU Pellegrin, Bordeaux, France
2. Laboratoire MRGM- Inserm U1211, Université Bordeaux, Bordeaux, France
3. Service de Dermatologie Pédiatrique, CHU Pellegrin, Bordeaux, France
4. Service de Génétique Clinique, CHU Hopital Jeanne de Flandre, Lille, France
5. Génétique Médicale, CHU Nice , NICE, France
6. Service d'Immuno-Hématologie Pédiatrique, Hôpital Robert Debré, PARIS, France

Mots clefs : Albinisme, syndrome d'Hermansky-Pudlak, BLOC1S3, HPS8, Deficit en granules denses

Résumé :

Le syndrome d' Hermansky-Pudlak (HPS) est une forme syndromique d'albinisme oculo-cutané associant hypopigmentation cutanéo-phanérienne, atteintes visuelles et diverses atteintes hématologiques, immunologiques ou respiratoires. Dix formes d'HPS sont décrites, toutes de transmission autosomique récessive, impliquant chacune un gène différent. HPS8, causé par des mutations du gène *BLOC1S3* (OMIM 609762), est une des formes les plus rares d'HPS, avec 2 familles décrites dans la littérature. Les patients rapportés présentent des hypopigmentations et des atteintes visuelles modérées, ainsi que des atteintes de la lignée plaquettaire pauci- voire asymptomatiques.
Nous rapportons ici 3 nouvelles familles avec des membres atteints d'HPS8. Dans la 1ère famille, le cas index nous a été adressé devant la survenue d'un lymphome de Hodgkin à prédominance lymphocytaire, dans un contexte d'hypopigmentation cutanéo-phanérienne et de troubles visuels. Il a également présenté des épisodes de saignement post-chirurgicaux. Il est porteur d'une délétion homozygote de 19 paires de bases (pb), responsable d'un décalage du cadre de lecture avec codon stop prématuré, NM_212550.3:c.385_403del (p.(Ser129Glnfs*90)), absente de g*nomAD*. Il a 3 frères et sœurs atteints également dont les analyses sont en cours. Dans la 2ème famille le cas index présente une hypopigmentation modérée, une baisse d'acuité visuelle avec transillumination irienne et un déficit d'agrégation plaquettaire. Ce patient est porteur d'une délétion en phase de 24pb à l'état homozygote, NM_212550.3:c.444_467del (p.(Gln150_Ala157del)). Cette délétion n'est rapportée qu'une fois sur 60000 allèles, à l'état hétérozygote, dans *gnomAD*. Elle emporte deux acides aminés (aa) très conservés. Dans la 3ème famille, une mutation faux-sens homozygote, NM_212550.3:c.322C > G (p.(Leu108Val)), a été identifiée chez une patiente issue d'une union consanguine. Elle présente une hypopigmentation modérée, des troubles visuels et un déficit d'agrégation plaquettaire avec déficit en granules denses, dans un contexte plus global de pathologie congénitale sévère. Au moment du diagnostic, ce variant, concernant un aa très conservé, n'était pas retrouvé à l'état homozygote dans la base de données ExaC. Il a depuis été ajouté dans la base g*nomAD* où il est présent chez 67 personnes à l'état homozygote. Nous discutons de la pathogénicité de ce variant faux sens à la lumière de ces nouvelles données.
Ces 3 familles comparées à celles précédemment décrites dans la littérature laissent penser que HPS8 est une forme très modérée d'HPS. Notre approche de panel diagnostic au laboratoire de génétique moléculaire du CHU de Bordeaux permet l'identification de ces formes rares, pauci-symptomatiques et de dresser de meilleures corrélations génotypes-phénotypes.

P671 : GeneMatcher : le meetic des généticiens : 4 jours en moyenne pour trouver le bon partenaire

Auteurs :

Ange-Line Bruel (1, 2), Antonio Vittobello (1, 3), Frédéric Tran Mau-Them (1, 3), Sophie Nambot (1, 4), Virginie Quéré (1, 3), Paul Kuentz (5), Julien Thevenon (1, 4), Mirna Assoum (1), Sébastien Moutton (1, 6), Nada Houcinat (1, 4), Nolwenn Jean-Marçais (1, 4), Mathilde Lefebvre (1, 3), Anne-Laure Mosca-Boidron (1, 3), Patrick Callier (1, 3), Christophe Philippe (1, 3), Christel Thauvin-Robinet (1, 4), Laurence Faivre (1, 4)

1. FHU-TRANSLAD,INSERM UMR1231, Équipe GAD, Université Bourgogne-Franche Comté/CHU Dijon, Dijon, France
2. Unité Fonctionnelle Innovation en Diagnostic génomique des maladies rares, FHU-TRANSLAD, CHU Dijon Bourgogne, Dijon, France
3. Unité Fonctionnelle Innovation en Diagnostic génomique des maladies rares, CHU Dijon, Dijon, France
4. Centre de Référence Anomalies du Développement et syndromes malformatifs, centre de génétique, CHU Dijon, Dijon, France
5. FHU-TRANSLAD,INSERM UMR1231, Équipe GAD, CHU Dijon, Dijon, France
6. Centre de Référence Anomalies du Développement et syndromes malformatifs, centre de génétique, Université Bourgogne-Franche Comté/CHU Dijon, Dijon, France

Mots clefs : Partage de données, déficience intellectuelle, anomalies du développement

Résumé :

Les nouvelles technologies de séquençage haut-débit (SHD) ont largement prouvé leur efficacité pour identifier les bases moléculaires des pathologies avec une grande hétérogénéité clinique et génétique. Cependant, de nombreux résultats demeurent non-concluants car les corrélations génotype-phénotype sont limitées par le caractère ultra-rare des maladies dont les causes demeurent à ce jour encore non élucidées limitant ainsi les chances de récurrence. 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 caractériser de nouveaux syndromes rares d'origine génétique.
Nous rapportons ici notre expérience dans le partage de données à l'aide du réseau international GeneMatcher. Au cours des deux dernières années, nous avons partagé 56 gènes candidats, alors inconnus en pathologie humaine. Dans 82% des cas (46/56 gènes), un match a lieu avec une médiane de 1 match par gène soumis (entre 0 et 34 matchs). A l'issue de ces matchs, les différentes comparaisons des données cliniques et de corrélation génotype/phénotype ont clairement permis de confirmer la pathogénicité du gène candidat dans 19/46 cas (41%) et d'infirmer son implication dans 4/46 cas (8%). La récurrence limitée des 51% autres gènes candidats n'a actuellement pas encore permis de conclure sur leur causalité. La rapidité de réaction et de conclusion est également à souligner, puisque le délai médian de la 1ère réponse après soumission est de 58 minutes. Chez les 41% de matchs ayant confirmé la pathogénicité du gène candidat, le délai médian entre la soumission et la conclusion de pathogénicité grâce au nombre de récurrence suffisant s'élève à 4,5 jours. Dix soumissions n'ont à ce jour pas encore fait l'objet d'un match ; ceci peut s'expliquer par la rareté de l'implication du gène dans une pathologie déjà elle-même rare. A noter qu'en 2017, le nombre croissant d'utilisateurs de Genematcher a permis d'augmenter significativement le temps de réaction, jusqu'à parfois moins de 10 minutes après la soumission, pour échanger le génotype et le phénotype des patients entre deux équipes. De plus, ce réseau a permis de développer de nouvelles collaborations internationales dans 51% des cas, pour établir des cohortes de patients atteints de maladies ultra-rares et initier des études fonctionnelles, qui seront ensuite valorisés par des publications scientifiques.
En conclusion, Genematcher apparait un élément rapide et essentiel à l'interprétation des variations de signification inconnues identifiées par SHD dans des gènes non OMIM et une étape indispensable dans le processus d'identification de nouveaux gènes dans les anomalies du développement et/ou déficiences intellectuelles.

2018_01_assises_AngeLine_genematcher.docx

P672 : Stratégie d'analyse de STRC, un gène majeur impliqué dans les surdités moyennes.

Auteurs :

Mélody MOCLYN (1), Christel VACHE (1), Corinne BAUDOIN (1), Valérie FAUGERE (1), David BAUX (1), Michel KOENIG (1, 2), Anne Françoise ROUX (1, 2)

1. génétique moléculaire, CHRU, MONTPELLIER, France
2. génétique de maladies rares (LGMR) EA7402, Université, MONTPELLIER, France

Mots clefs : surdité, STRC, NGS

Résumé :

Le gène *STRC* codant pour la stéréociline, est localisé sur le chromosome 15 au niveau d'une grande structure dupliquée en tandem incluant également les gènes *PIP5K1b*, *CATSPER2* et *CKMT1A*.
À l'exception de *CKMT1A*, tous ces gènes sont dupliqués sous forme de pseudogènes non fonctionnels. Ainsi, le pseudogène y*STRC*, qui présente une homologie de séquence de 98,9% avec le gène *STRC* (exons et introns inclus), reste non fonctionnel grâce au variant c.4057T > C qui introduit un codon stop prématuré au niveau de l'exon 20.
Conséquence directe de l'instabilité de cette structure génomique propice aux grands réarrangements, les mutations les plus fréquentes du gène *STRC* sont de grandes délétions de tailles variables. Si ces délétions sont bi-alléliques et englobent également le gène *CATSPER2* la perte auditive est alors associée à une stérilité masculine. Des mutations ponctuelles ont également été rapportées mais la présence du pseudogène y*STRC* rend leur identification plus délicate. Afin d'inclure l'étude du gène *STRC* dans notre offre diagnostique de surdité non syndromique qui par ailleurs inclut la recherche d'altérations dans plus de 70 gènes, nous avons mis en place différentes approches permettant une analyse spécifique de ce gène. La présence de grandes délétions est ainsi recherchée par analyse des données NGS et validée par QMPSF ciblée spécifiquement sur le gène *STRC*. Les mutations ponctuelles et les petites délétions et insertions sont quant à elles détectées soit par lecture directe des résultats NGS soit par analyse visuelle des fichiers Bam via le logiciel Intergrative Genomics Viewer pour les séquences *STRC* et y*STRC*. Ces altérations de séquence sont ensuite validées à l'aide d'une amplification long-range spécifique du gène *STRC* comprenant ses extrémités 5' et 3' terminales suivie de PCR nichées ciblant les séquences d'intérêt. Enfin, dans le cas particulier de variations pouvant altérer le mécanisme d'épissage notre étude du gène *STRC* est systématiquement complétée par une analyse minigène.
Bien que les mutations *STRC* identifiées dans notre laboratoire soient majoritairement de grandes délétions un nombre non négligeable de mutations ponctuelles incluant des mutations d'épissage ont été identifiées. La recherche de ces mutations lors d'une analyse du gène *STRC* est donc fortement recommandée.
L'intégration de ces approches dans notre stratégie d'analyse diagnostique a permis d'identifier 9 patients hétérozygotes composites ou homozygotes pour des mutations *STRC*.
Le gène *STRC* représente donc le deuxième gène responsable de surdité après *GJB2/GJB6*, avec 9% d'implication dans notre cohorte génotypée. Ces résultats montrent que l'analyse de *STRC* doit être intégrée à une offre diagnostique exhaustive des surdités.

P673 : Identification par Whole Genome Sequencing d'une inversion paracentrique de novo de 2.1 Mb en 3p14.1 entraînant l'haploinsuffisance du gène FOXP1 chez une patiente présentant une déficience intellectuelle sévère.

Auteurs :

Marie-Laure Vuillaume (1, 2), Benjamin Cogné (3), Médéric Jeanne (1, 2), Ellen Hammouche (4), Delphine Quinquis (3), Thomas Besnard (3), Jean-François Deleuze (5), Richard Redon (6), Stéphane Bézieau (3, 7), Frédéric Laumonnier (1, 2), Annick Toutain (1, 2)

1. Service de Génétique, CHU de Tours, Tours, France
2. UMR_INSERM U930, Université François Rabelais, Tours, France
3. Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU de Nantes, Nantes, France
4. Service de Génétique, CHU de Nantes, Tours, France
5. Centre National de Recherche en Génomique Humaine, CEA, Evry, France
6. INSERM CNRS, Université de Nantes, CHU de Nantes, l'Institut du Thorax, Nantes, France
7. CRCINA INSERM, Université de Nantes, Nantes, France

Mots clefs : FOXP1, Whole Genome Sequencing, inversion paracentrique, chromosome 3, déficience intellectuelle, absence de langage, retard global de développement, autisme

Résumé :

Le gène *FOXP1* (OMIM*605515) localisé en 3p13 code la protéine FOXP1 (Forkhead box P1) appartenant à un sous-groupe de la famille des facteurs de transcription FOX incluant les protéines FOXP1, FOXP2, FOXP3 et FOXP4. Le transcrit majoritaire FOXP1 comprend 21 exons répartis sur 7,114 kb (NM_032682) dont 16 (exons 6 à 21) codent une protéine de 677 acides aminés jouant un rôle critique dans le développement cérébral. *In vitro,* la protéine FOXP1 s'hétérodimérise avec la protéine FOXP2 via ses domaines Zinc Finger et Leucine Zipper et réprime ensuite la transcription de gènes cibles en se liant à l'ADN via son domaine Forkhead box. Depuis les années 2010, des mutations perte de fonction, *de novo,* dans le gène *FOXP1* ont été rapportées chez de nombreux patients présentant des troubles du spectre autistique, une déficience intellectuelle avec des troubles sévères du langage ainsi qu'un retard global de développement modéré à sévère (OMIM#613670). A ce jour, 48 mutations, majoritairement tronquantes, incluant 26 délétions, 8 mutations non-sens, 5 mutations frameshift, 5 mutations faux-sens, 3 mutations affectant l'épissage et une translocation équilibrée de 8.9 Mb ont été décrites dans le gène *FOXP1* (Meerschaut et al. 2017). Nous rapportons ici la découverte par *Whole Genome Sequencing* d'une inversion paracentrique *de novo* de 2.1 Mb du chromosome 3 qui interrompt le gène *FAM19A4* au niveau de l'intron 1 et le gène *FOXP1* au niveau de l'intron 11. Cette inversion, confirmée par séquençage Sanger, a été identifiée chez une patiente chez qui une première analyse de l'exome s'était révélée négative (patiente du consortium HUGODIMS). Cette patiente présentait un autisme, une déficience intellectuelle sévère avec absence de langage, un retard global de développement, une épilepsie et des anomalies vasculaires très particulières (angiome plan étendu du dos, dilatations des veines corticales cérébrales). Une analyse du transcrit par qPCR à partir des ARNm extraits de prélèvements sur tube Paxgene montre que cette inversion entraîne une diminution de plus de 50% de l'expression de FOXP1 dans les cellules mononucléées de sang périphérique chez la patiente. Des analyses par Western Blot sont en cours pour évaluer l'effet de cette inversion sur la quantité de protéine FOXP1. Ces résultats suggèrent que l'haploinsuffisance du gène *FOXP1* est en grande partie responsable du phénotype observé chez la patiente notamment au niveau neuro-développemental. Ces résultats illustrent également l'intérêt du *Whole Genome Sequencing* dans la découverte de remaniements chromosomiques équilibrés de taille inférieure à la résolution du caryotype, qui, jusqu'à présent, n'étaient pas détectés avec les techniques de cytogénétique conventionnelle.

P674 : Elargissement du spectre mutationnel de GPC3 dans le syndrome de Simpson-Golabi-Behmel (SSGB) : revue de la littérature et description de 38 nouvelles mutations dans une cohorte de 49 patients SSGB.

Auteurs :

Marie-Laure Vuillaume (1, 2), Marie-Pierre Moizard (1, 2), Sylvie Rossignol (3), Edouard Cottereau (1), Sandrine Vonwill (1, 2), Irène Netchine (3), Martine Raynaud (1, 2), Frédéric Brioude (3), Annick Toutain (1, 2)

1. Service de Génétique, CHU de Tours, Tours, France
2. UMR_INSERM U930, Université François Rabelais, Tours, France
3. Unité d'explorations fonctionnelles endocriniennes, CHU Trousseau, Paris, France

Mots clefs : GPC3, mutations, syndrome de Simpson-Golabi-Behmel, transmission récessive liée à l'X, avance de croissance, spectre mutationnel

Résumé :

Le syndrome de Simpson-Golabi-Behmel (SSGB) (OMIM#312870) est un syndrome lié à l'X, caractérisé par une avance de croissance pré- et postnatale, une dysmorphie faciale, une macrocéphalie, des malformations congénitales, une organomégalie, un risque accru de tumeurs et un déficit intellectuel dans certains cas. Ce syndrome est causé par des mutations du gène *GPC3* (glypican-3). Ce gène s'étend sur une région génomique de 450 kb en Xq26.2 et a un transcrit pleine longueur de 2,3 kb contenant 8 exons (NM_004484.3) qui code une protéine de 580 acides aminés. Le syndrome de Simpson-Golabi-Behmel a été bien caractérisé sur le plan clinique (Cottereau et al. 2013). En revanche, le spectre global des mutations de *GPC3* n'a jamais été décrit même si des mutations ont été rapportées ponctuellement ou dans des petites séries. La revue des données de la littérature et de nos deux laboratoires (Paris et Tours) a permis de compiler un total de 86 mutations distinctes dans le gène *GPC3* identifiées dans 120 familles non apparentées. Parmi ces mutations, 57 ont été précédemment décrites dans la littérature dans 71 familles non apparentées. Nous élargissons ce spectre mutationnel avec la description de 38 mutations de *GPC3,* dont 29 nouvelles, identifiées dans notre cohorte de 49 patients non apparentés atteints de SSGB. Globalement, les mutations les plus fréquentes sont des délétions mono- ou multi-exoniques (35%), des mutations frameshift (24%) et des mutations non-sens (16%). Les autres types de mutations sont rares : faux-sens (8%), duplications exoniques (8%), mutations d'épissage (4%), translocations (2%). Ces mutations réparties tout le long du gène sont majoritairement uniques, 12 seulement étant récurrentes. Dans notre cohorte, elles sont héritées dans 82 % des cas. La plupart de ces mutations entraîne l'apparition d'un codon stop prématuré renforçant l'hypothèse que le syndrome de SGB résulte d'une perte de fonction de GPC3 indépendamment du type de mutation ou de sa localisation. Ces mutations ont été généralement identifiées par une analyse ciblée du gène chez des patients avec un diagnostic clinique de SSGB. Cependant, dix de ces variants ont été détectés récemment par des technologies de haute résolution (CGH-array ou séquençage haut-débit) chez des fœtus présentant des signes d'appels échographiques ou chez des patients avec anomalies du développement. Pour ces variants, le diagnostic clinique était rétrospectivement compatible avec un SSGB. A l'inverse, l'implication dans le syndrome de SGB d'un autre variant détecté en NGS n'a pas pu être confirmée du fait de l'absence de données cliniques. Ces observations illustrent la nécessité d'une évaluation précise du phénotype combinée à une analyse moléculaire approfondie du gène *GPC3* notamment pour l'interprétation de ces nouveaux variants de découverte fortuite. Nous espérons que cette description du spectre mutationnel de *GPC3* puisse aider les cliniciens et les biologistes dans leur interprétation.

P675 : Caractérisation de deux nouvelles mutations du gène TRPS1 responsables du syndrome tricho-rhino-pharyngien de type I.

Auteurs :

Manon GODIN (1), Alexandre LAISNEY (1), Nicolas RICHARD (1), Dominique BONNEAU (2), Sophie BLESSON (3), Marine TESSARECH (2), Marie-Laure KOTTLER (1), Arnaud MOLIN (1)

1. Service de Génétique, CHU Caen Normandie, Caen, France
2. Service de Génétique, CHU Angers, Angers, France
3. Service de Génétique, CHRU Hôpitaux de Tours, Tours, France

Mots clefs : Tricho-rhino-pharyngien de type I; TRPS1; mutation

Résumé :

Introduction : Le syndrome tricho-rhino-phalangien (TRPS) est une maladie autosomique dominante caractérisée par une association d'anomalies cranio-faciales et squelettiques comprenant des cheveux fins et épars, un nez bulbeux avec un philtrum long, un raccourcissement des extrémités, une petite taille et des épiphyses en cônes. Trois sous-types ont été décrits : le TRPS type I (MIM190350) et III (MIM190351) se distinguent par le degré de sévérité du phénotype, les patients aux traits les plus marqués définissant le type III. Le type I résulte d'une haploinsuffisance du gène *TRPS1* à la différence du type III qui résulterait d'un effet dominant négatif expliquant le phénotype plus sévère. Le TRPS type II, également appelé syndrome de Langer-Giedion (MIM150230), est un syndrome de gènes contigus défini par l'association d'un TRPS et d'exostoses multiples, secondaires à une microdélétion 8q24 emportant les gènes *TRPS1* et *EXT1*.
Matériels et méthodes : Deux cas familiaux de TRPS de type I ont été étudiées : analyse des régions codantes et des jonctions introns-exons par séquençage haut-débit (Ion Personal Genome Machine, Thermofisher Scientific, Waltham, Massachusetts, États-Unis) et recherche de réarrangement par méthode Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA kit P228-B1, MRC-Holland, Amsterdam, Pays-Bas) couvrant les réarrangements des gènes *TRPS1* et *EXT1.* Une étude des transcrits sanguins a été réalisée par PCR quantitative et qualitative après extraction de l'ARN de sang prélevé sur tube PAXgene Blood RNA (PreAnalytiX GmbH, Hombrechtikon, Suisse).
Résultats : Nous avons mis en évidence deux nouvelles mutations à l'état hétérozygote de *TRPS1* (NM_014112) : une duplication d'une taille comprise entre 11 et 35 kb incluant la totalité de l'exon 5 (c.2097- ?_2700+ ? dup) d'origine maternelle (patient 1), et une mutation d'épissage du site donneur de l'intron 3 c.966+1G > A (patient 2).
Concernant le patient 1, le séquençage du transcrit muté a révélé la présence d'un exon 5 surnuméraire avec prédiction, *in silico*, d'un décalage du cadre de lecture conduisant à une protéine tronquée p.(R901EfsX56). Le transcrit muté du patient 2 n'a pas pu être mis en évidence.
Dans les deux cas, l'étude quantitative des transcrits a montré une diminution de l'expression de l'ordre de 50 % de *TRPS1* suggérant un mécanisme d'haploinsuffisance.
Conclusion : Nous avons mis en évidence deux nouvelles mutations du gène *TRPS1*: une duplication intragénique de l'exon 5 et une mutation d'épissage. L'étude des transcrits suggère une perte de fonction du gène *TRPS1* par haploinsuffisance. Ces résultats sont en accord avec les données actuelles de la littérature.

P676 : ZYG11B : un nouveau gène candidat pour le Spectre Oculo-Auriculo-Vertebral

Auteurs :

Angèle Tingaud-Sequeira (1), Sandrine Marlin (2), Marie Berenguer (3), Estelle Lopez (1), Aurélien Trimouille (4), Sabine Charron (5), Harmony De Belvalet (1), Christophe Hubert (3), Didier Lacombe (6), Benoît Arveiler (6), Caroline Rooryck-Thambo (6)

1. MRGM, Inserm U-1211, Inserm-Université de Bordeaux, Bordeaux, France
2. Département de Génétique, Centre de Référence des Surdités Génétiques, Hôpital Universitaire Necker-Enfants-Malades, Paris, France
3. MRGM, Inserm U-1211, Inserm-Université de Bordeaux, bordeaux, France
4. Service de Génétique Médicale, Hôpital Pellegrin-CHU Bordeaux, Bordeaux, France
5. Institut de RYthmologie et modélisation Cardiaque, Université de Bordeaux, Pessac, France
6. MRGM, Inserm U-1211/Service de Génétique Médicale, Inserm-Université de Bordeaux/ Hôpital Pellegrin-CHU Bordeaux, bordeaux, France

Mots clefs : Spectre Oculo-Auriculo-Vertebral , OAVS, Goldenhar, ZYG11B, zebrafish, acide rétinoïque

Résumé :

Le Spectre Oculo-Auriculo-Vertebral ou Syndrome de Goldenhar (OAVS [MIM: 164210]) est une anomalie du développement embryonnaire caractérisée par une microsomie hémifaciale associée à des malformations auriculaires, oculaires et vertébrales. Nous avons recruté la plus grande cohorte d'OAVS décrite à ce jour avec près de 300 patients. L'hétérogénéité clinique de ce spectre avec pénétrance incomplète et expressivité variable en a limité le diagnostic moléculaire. Ainsi, le seul gène actuellement associé à l'OAVS, *MYT1*, est en cause chez 1,6% des patients de notre cohorte. Notre activité de recherche de nouveaux gènes candidats se poursuit donc et nous a permis d'identifier le gène *ZYG11B*.
Ainsi, un patient présentant un phénotype « complet » du spectre OAVS, d'allure sporadique, a été inclus dans une étude d'exomes en trio. Ce patient présente une microsomie hémifaciale, une microtie bilatérale, des enchondromes préauriculaires et une dysplasie des lobes bilatéraux. Au niveau oculaire, il présente un dermoïde épibulbaire à gauche et un colobome de la paupière à droite. Enfin, il présente une fusion des vertèbres cervicales et une agénésie costale. Nous avons mis en évidence un variant non-sens *de novo* dans le gène *ZYG11B*, (NM_024646, c.1609G > T, p.(Glu537Ter)). Ce gène code pour une protéine associée à l'ubiquitine ligase E2. Elle jouerait un rôle de sélection de ces substrats en vue d'une dégradation par le protéasome.
Par utilisation de siRNA spécifiques de ZYG11B en culture cellulaire de HeLa, nous avons mis en évidence une baisse significative de la prolifération cellulaire. Ces résultats sont en accord avec le rôle de ZYG11B sur le cycle cellulaire déjà décrit dans la littérature. A l'inverse sa surexpression n'influence pas la prolifération.
Par ailleurs, la surexpression de *MYT1,* facteur de transcription impliqué dans l'OAVS, ne régule pas l'expression de *ZYG11B*. En revanche, l'acide rétinoïque, agent toxique induisant un phénotype OAVS-like, induit une diminution drastique de l'expression de *ZYG11B* mimant ainsi un effet perte de fonction, tout comme pour *MYT1*.
Enfin des expériences de knock-down de *zyg11* chez le modèle poisson zèbre montrent un effet délétère spécifique sur le développement des cartilages craniofaciaux. De manière très intéressante, un phénotype d'ondulation de la notochorde dans la région proximale est observé chez un nombre significatif d'embryons. Ce phénotype pourrait correspondre aux anomalies vertébrales observées dans l'OAVS.
L'ensemble des résultats de ces études génétiques et fonctionnelles sont en faveur d'un effet pathogène de l'inactivation de *ZYG11B*. *ZYG11B* apparaît donc comme un fort candidat pour l'OAVS. Nous n'avons pas identifié à ce jour de deuxième patient muté pour ce gène mais nous poursuivons son étude sur les nouveaux patients de la cohorte. Parallèlement nous recherchons ces partenaires privilégiés qui seraient d'autres candidats potentiellement impliqués dans l'OAVS.

Tingaud-Sequeira et al.docx

P677 : UBE3B : un nouveau gène impliqué dans le syndrome de Oculo-cérébral de Kaufman

Auteurs :

Hubert JOURNEL (1), Agnès GUICHET (2), Wilfrid CARRE (3), Lorrie Le PAGE (4), Marco TARTAGLIA (5), Bernard Le marec (6), Véronique DAVID (3), Dominique BONNEAU (7), Sylvie ODENT (8), Christele DUBOURG (3)

1. Unité de Génétique Médicale, CHBA, VANNES, France
2. Génétique médicale, CHU, Angers, France
3. Biochimie Génétique, CHU Rennes, Rennes, France
4. Génétique médicale, CHBA Vannes, Vannes, France
5. Génétique médicale, CHU, Roma, Italie
6. Génétique médicale, CHU Rennes, Rennes, France
7. Génétique médicale, CHU Angers, Angers, France
8. Unité de Génétique Médicale CLAD Ouest, CHU Rennes, RENNES, France

Mots clefs : Kaufman syndrome, BPIDS, blépharophimosis, déficience intellectuelle, UBE3B

Résumé :

Kaufman a décrit en 1971 une famille ou 3 enfants étaient atteints de déficience sévère associés à une dysmorphie et des atteintes multi-organes.
Nous suivions depuis 30 ans environ 3 familles de Bretagne sud, dont une consanguine. Le diagnostic clinique précis n'avait pas été rapporté à la publication de Kaufman, et de nombreuses hypothèses avaient été évoquées. En 2011 il est décidé un Exome en trio dans l'une de nos familles. Celui-ci devra être associé à une étude par *homozygoty mapping* pour permettre la désignation du gène UBE3B comme le meilleur candidat. Dans le même temps, le gène faisait l'objet d'une publication confirmant qu'il s'agissait du gène impliqué dans nos familles.
Une seule mutation c.2810+2_2810+5del était retrouvée chez les patients vivants et chez les 6 parents. Il s'agit d'une mutation d'épissage emportant 4 bases de l'intron 25 et altérant un site donneur d'épissage de l'exon 25 conduisant à un saut de cet exon.
La mise en évidence d'une seule mutation dans nos 3 familles pose la question d'un effet « fondateur » probable dans le sud Morbihan
Avec les publications qui ont suivi, le syndrome de Kaufman est actuellement nettement mieux décrit. Le nom de syndrome BPIDS (blepharophimosis-ptosis-intellectual-disability syndrome) est également utilisé comme synonyme. Il associe de nombreux signes qui en font une entité remarquable :

- Atteinte générale avec retard de croissance in utéro et post natal
- Atteinte psycho-intellectuelle moyenne-sévère
- Dysmorphie faciale avec blépharophimosis, microcéphalie, télécanthus, anomalies des sourcils, nez court, philtrum long, lèvres fines, rétrognatisme, « tags » préauriculaires
- Atteintes d'organes : difficultés alimentaires et respiratoires importantes, troubles musculo-squelettiques avec arthrogrypose, arachnodactylie, pieds plats valgus, scolioses, neurologiques avec dépendance, épilepsie.
- Malformations cérébrales (Agénésie/hypoplasies du Corps calleux), cardiaques, génitales, ophtalmologiques.

UBE3B assises JOURNEL.docx

P678 : Analyse morphologique faciale assistée par ordinateur : différences entre les patients avec syndrome Kabuki par mutations KMT2D ou KDM6A, une aide à la stratégie de phénotypage inverse ?

Auteurs :

Kevin Yauy (1), guilaine Boursier (2), Elodie Sanchez (1), Vincent Gatinois (3), Lacombe Didier (4), Stéphanie Arpin (5), Fabienne Giuliano (6), Damien Haye (7, 8), Marlène Rio (9), Annick Toutain (10), Klaus Dieterich (11), Elise Brischoux-Boucher (12), Patrica Blanchet (1), Stanislas Lyonnet (9), Damien Sanlaville (13), David Geneviève (1)

1. Département de Génétique Médicale, Maladies Rares et Médecine Personnalisée, Génétique cliniqu, CHU Montpellier, Université Montpellier, Centre de référence anomalies du développement SORO. Unité Inserm U1183, Montpellier, France
2. Département de Génétique Médicale, Maladies Rares et Médecine Personnalisée, laboratoire de génétique moléculaire, UMAI et maladies rares, , CHU Montpellier, Université Montpellier, Montpellier, France
3. Département de Génétique Médicale, Maladies Rares et Médecine Personnalisée, laboratoire de génétique chromosomique, , CHU Montpellier, Université Montpellier., Montpellier, France
4. Service de génétique clinique, Centre de référence anomalies du développement SORO, Hopital Pellegrin, Bordeaux, Bordeaux, France
5. Génétique médicale, , CHU Tours, Tours, France
6. Université Côte d'Azur, Centre Hospitalier Universitaire de Nice, Service de Génétique Médicale,, Nices, Nice, France
7. Génétique médicale, , Hôpital Robert Debré, APHP, Paris, Paris, France
8. Génétique médicale, , Hôpital Pitié-Salpétrière, APHP Paris, Paris, France
9. Service de génétique clinique,, Institut IMAGINE, Hôpital Necker enfants Malades, Paris, Paris, France
10. Service de génétique clinique,, , CHU Tours, Tours, France
11. Service de génétique clinique,, CHU Grenoble , Grenoble, France
12. Centre de Génétique Humaine, , CHU Saint Jacques, Besançon, Besançon, France
13. laboratoire de génétique chromosomique,, HFME, CHU Lyon, Lyon, France

Mots clefs : Kabuki, KMT2D, KDM6A, nouvelles technologies, Next-Generation Phenotyping , FDNA, Face2gene, correlations génotype-phénotype

Résumé :

Les progrès récents dans les technologies de séquençage à haut débit ont changé la stratégie et le processus pour la recherche d'un diagnostic de précision chez un patient avec déficience intellectuelle (DI). En effet, avant le séquençage de nouvelle génération (NGS), la stratégie classique était basée sur la capacité d'identifier une maladie génétique par le phénotype du patient (stratégie phénotype en premier). Cette stratégie était limitée uniquement aux phénotypes cliniquement reconnaissables et à l'expertise du généticien clinicien et est responsable d'une « odyssée diagnostique » pour les patients. Le NGS permet maintenant d'effectuer des études moléculaires sans hypothèse préconçue (stratégie génotype en premier), stratégie qui est plus efficace que la stratégie phénotype en premier.
Cependant, même si cette nouvelle stratégie est plus puissante que la stratégie classique, les médecins sont maintenant confrontés à la difficulté d'identifier le bon gène candidat parmi tous les variants génétiques produits par le NGS. Une nouvelle étape est apparue, l'étape de phénotypage inverse qui consiste à essayer d'associer le génotype candidat au phénotype observé. Cette étape n'est à ce jour pas encore automatisée, consomme beaucoup de temps humain et est concentré sur un petit nombre d'expert, perpétuant en partie l'« odyssée diagnostique ».

Cependant, outre le progrès technologique dans le séquençage de l'ADN, d'autres avancées ont été réalisées en particulier en ce qui concerne la reconnaissance automatisée du phénotype facial et la capacité d'associer ensemble un phénotype facial à une maladie génétique laissant entrevoir la possibilité d'une automatisation ainsi qu'une diffusion rapide et facile de la capacité au « gesltat » des généticiens cliniciens.

Dans cette étude, nous avons utilisé une nouvelle analyse de la morphologie faciale (FDNA) pour rechercher s'il existait des différences morphologiques faciales entre les 2 génotypes du syndrome Kabuki (SK). Nous avons recueilli 34 photographies de face de 13 patients (8 garçons et 5 filles) avec mutation *KMT2D* et fait de même avec 13 patients SK et mutation *KDM6A*. Nous avons comparé les masques générés par la compilation de ces photographies à celle de la population générale. Les résultats montrent une aire sous la courbe (AUC) à 0.82 et une p value (p) à 0.04 entre le groupe *KMT2D* vs *KDM6A*, une AUC à 0.99 et un p=0.0001 pour le groupe *KMT2D* vs contrôle et une AUC à 0.88 et un p=0.004 pour le groupe *KDM6A* vs contrôle. Ces résultats révèlent une différence statistiquement significative entre chaque groupe démontrant qu'il existe un morphotype facial différent entre les patients SK par mutation *KMT2D* ou *KDM6A*. Ces résultats montrent également la capacité de discrimination importante du logiciel de FDNA pouvant supposer la possibilité d'une étape de phénotypage nouvelle génération (Next-Generation Phenotyping) dans le processus de diagnostic des patients avec DI.
remerciement Asso SK

P679 : FOXE3 : correlations phénotype-génotype

Auteurs :

Julie Plaisancié (1, 2), Nicholas Ragge (3, 4), Hélène Dollfus (5), Josseline Kaplan (6), Daphne Lehalle (7), Christine Francannet (8), Gilles Morin (9), Hélène Colineaux (10), Patrick Calvas (11, 2), Nicolas Chassaing (11, 2)

1. Service de Génétique Médicale , CHU Toulouse, Toulouse, France
2. INSERM U1056, Université Toulouse III, Toulouse, France
3. Faculty of Health and Life Sciences, Oxford Brookes University, Oxford, Royaume Uni
4. West Midlands Regional Genetics Service, Birmingham Women and Children's NHS Foundation Trust, Birmingham, Royaume Uni
5. Centre de Référence pour les affections rares en génétique ophtalmologique, CARGO, Filière SENSGENE, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
6. Génétique Ophtalmologique, INSERM U1163, Paris, France
7. Centre de Génétique et Centre de Référence , CHU Dijon, Dijon, France
8. Service de Génétique Médicale, CHU Estaing, Clermont-Ferrand, France
9. Service de génétique, Hôpital nord d'Amiens, Amiens, France
10. Department of Epidemiology, Health Economics and Public Health , Toulouse University Hospital, Toulouse, France
11. Service de Génétique Médicale, CHU Toulouse, Toulouse, France

Mots clefs : anophtalmie, dysgénesie du segment antérieur, aphakie, cataracte, developpement oculaire, FOXE3, correlations phenotype-genotype, microphtalmie.

Résumé :

Les micro-anophtalmies (MA) sont des anomalies sévères du développement oculaire, dont la plupart est d'origine génétique. Plus de 30 gènes ont été décrits, chacun étant responsable d'un petit pourcentage de ces anomalies. Parmi ceux-ci, le gène *FOXE3*, initialement impliqué dans des formes dominantes de dysgénésie du segment antérieur et des formes récessives de microphtalmie et d'aphakie primaire. Nous décrivons 8 patients présentant un phénotype oculaire de type MA. Parmi eux, 7 portent des mutations bialléliques du gène *FOXE3* dont deux non décrites : p.(Ala78Thr) et p.(Arg104Cys). Pour mieux comprendre le rôle de *FOXE3* dans ce large spectre d'anomalies oculaires et selon deux modes de transmission mendéliens différents, nous avons repris tous les patients porteurs de malformations oculaires décrits dans la littérature (123 patients au total dont 38 cas index et 85 apparentés) pour lesquels une mutation du gène *FOXE3* a été identifiée. Cette analyse révèle une corrélation entre le type de mutation, le mode de transmission et la sévérité du phénotype. La compréhension des bases génétiques de ces pathologies du développement oculaire apporte à la compréhension des mécanismes physiopathologiques et contribue à améliorer la prise en charge des patients et le conseil génétique délivré aux patients et leurs familles.

P680 : Dysplasie squelettique à révélation anténatale par déficit enzymatique en PGM3 (désordre congénital de la N-glycosylation) : quand l'absence de déficit immunitaire sévère chez un fœtus fait méconnaître le diagnostic.

Auteurs :

sophie blesson (1), aline vincent (1)

1. Service de Génétique Médicale, CHU Bretonneau , tours, France

Mots clefs : dysplasie squelettique ; micromélie ; dysgénésie calleuse ; déficit immunitaire

Résumé :

Nous rapportons l'observation d'un fœtus consanguin (ϕ = 1/16ème), de sexe féminin, dont la grossesse a été médicalement interrompue au terme de 32 SA, en raison de la découverte anténatale d'un syndrome polymalformatif associant une micromélie sévère des 4 membres, un rein en fer à cheval, des anomalies de la gyration avec dysgénésie calleuse et hippocampique et une dysmorphie faciale. Malgré de multiples explorations (TDM osseux anténatal, ACPA, neuropathologie, étude histologique de l'os fœtal) et les sollicitations auprès du CR MOC, aucun diagnostic n'a été établi. L'inclusion dans un projet de séquençage haut débit d'exome (FOETEX) avait été proposée aux parents mais non réalisée. Un conseil génétique restrictif avait été formulé, considérant l'hypothèse d'une génopathie autosomique récessive hautement probable en raison du lien de parenté des conjoints.
Le deuxième enfant du couple est décédé à 3 mois de vie, dans un contexte de déficit immunitaire combiné sévère. Il présentait en outre une atteinte squelettique avec micromélie sévère, un albinisme oculo-cutané et un état neurologique préoccupant. L'étude du panel des 301 gènes de déficit immunitaire a permis de mettre en évidence un statut homozygote pour la mutation c.1268T > C ; p.(Met 423 Thr) du gène *PGM3*. Le diagnostic moléculaire de déficit en PGM3 (N-acétylglucosamine-phosphate mutase) a été confirmé de manière rétrospective chez le fœtus. Parallèlement, l'étude de l'activité enzymatique spécifique de PGM3 sur des lignées lymphoblastoïdes congelées des deux patients et sur les fibroblastes du fœtus ont permis d'affirmer la pathogénicité de PGM3, mettant en évidence une activité enzymatique nulle.
L'albinisme ne fait partie du spectre phénotypique du déficit en PGM3 et une analyse du panel des gènes d'albinisme oculo-cutané est en cours chez le deuxième enfant, dans l'hypothèse d'une deuxième affection indépendante, génétiquement déterminée, de transmission autosomique récessive.
Cette observation illustre parfaitement les limites diagnostiques de l'examen fœtopathologique dans les situations où certains signes de la pathologie ne se révèlent que chez un enfant vivant. L'accès en routine des nouvelles technologies d'exploration du génome (NGS, WGS) permettra, dans de telles situations inexpliquées pour lesquelles la conviction clinique de pathologie génétique est importante, d'établir un diagnostic et de proposer, le cas échéant, un diagnostic prénatal moléculaire classique et/ou préimplantatoire.

P681 : Physiopathologie du récepteur de type 1 des IGF : analyse fonctionnelle chez sept patients avec anomalies d'IGF1R.

Auteurs :

Eloïse Giabicani (1, 2), Frédéric Brioude (1, 2), Irène Netchine (1, 2)

1. Explorations Fonctionnelles Endocriniennes, AP-HP, Paris, France
2. UMR S 938 , INSERM, Paris, France

Mots clefs : IGF1-R

Résumé :

Contexte : La régulation de la croissance fœtale est multifactorielle et incomplètement élucidée. Les insulin-like growth factor 1 et 2 (IGF-I et IGF-II) ont un rôle prépondérant, via leur récepteur commun IGF1R de type tyrosine kinase (1). Dans certaines pathologies pédiatriques rares il existe un retard de croissance intra-utérin (RCIU), malgré des taux circulant d'IGF-I normaux ou élevés (2). Ce phénomène de résistance à l'IGF-I est connu notamment dans le cas d'anomalie du gène codant pour le récepteur de type 1 des IGF (*IGF1R)*, où le ligand s'accumule dans le sang par défaut de fixation sur son récepteur (3-4). **Objectif :** Notre objectif était l'étude fonctionnelle d'IGF1R chez des patients ayant des anomalies d*'IGF1R.***Matériels et méthodes :** Nous disposions de fibroblastes chez sept patients, quatre avaient une mutation hétérozygote, un avait une mutation homozygote et deux avaient des délétions partielle ou totale d*'IGF1R.* Ces cellules étaient mises en culture puis stimulées ou non par de l'IGF-I à 10ng/mL et nous avons étudié l'effet de cette stimulation sur la phosphorylation de protéines d'intérêt (AKT et ERK) en western blot. **Résultats :** On constate une baisse de la phosphorylation d'AKT franche chez 5 de nos 7 patients, et proche de celle du témoin pour 2 d'entre eux (patients avec délétion complète du gène et mutation entraînant un codon stop précoce). Concernant la voie MAPK, les résultats sont plus hétérogènes, aucun patient n'ayant vraiment un patron d'activation différent du témoin. **Conclusion :** Nous avons mis au point un test fonctionnel permettant d'apprécier le degré d'activité de l'IGF1R par le degré de phosphorylation d'AKT sur la voie PI3kinase. Il existe donc un effet dominant négatif en cas de mutation hétérozygote faux sens d'*IGF1R* et les patients avec une haploinsuffisance (délétion ou codon stop précoce) présentent un fonctionnement normal ex vivo de leur récepteur, en accord avec un phénotype moins sévère.

(1). LeRoith D, Werner H, Beitner-Johnson D, Roberts CT. Molecular and cellular aspects of the insulin-like growth factor I receptor. Endocr Rev. 1995 Apr;16(2):143–63.
(2). David A, Hwa V, Metherell LA, Netchine I, Camacho-Hübner C, Clark AJL, et al. Evidence for a Continuum of Genetic, Phenotypic, and Biochemical Abnormalities in Children with Growth Hormone Insensitivity. Endocr Rev. 2011 Aug;32(4):472–97.
(3). Abuzzahab MJ, Schneider A, Goddard A, Grigorescu F, Lautier C, Keller E, et al. IGF-I receptor mutations resulting in intrauterine and postnatal growth retardation. N Engl J Med. 2003 Dec 4;349(23):2211–22.
(4). Gannage-Yared M-H, Klammt J, Chouery E, Corbani S, Megarbane H, Abou Ghoch J, et al. Homozygous mutation of the IGF1 receptor gene in a patient with severe pre- and postnatal growth failure and congenital malformations. Eur J Endocrinol. 2012 Dec 10;168(1):K1–7.

P682 : Etude phénotypique d'une cohorte francaise de 119 patients atteints du syndrome CHARGE et corrélation génotype/phénotype

Auteurs :

Marine Legendre (1, 2), Véronique Abadie (3, 4), Tania Attié-Bitach (5, 6), Nicole Philip (7), Tiffany Busa (7), Dominique Bonneau (8), Estelle Colin (8), Hélène Dollfus (9), Didier Lacombe (10), Annick Toutain (11), Sophie Blesson (11), Sophie Julia (12), Dominique Martin-Coignard (13), David Geneviève (14), Bruno Leheup (15), Sylvie Odent (16), Pierre-Simon Jouk (17), Sandra Mercier (18), Laurence Faivre (19), Catherine Vincent-Delorme (20), Christine Francannet (21), Sophie Naudion (10), Michèle Mathieu (22), Marie-Ange Delrue (10), Alice Goldenberg (23), Delphine Heron (24), Philippe Parent (25), Renaud Touraine (26), Valérie Layet (27), Damien Sanlaville (28), Chloé Quélin (16), Sébastien Moutton (10), Mélanie Fradin (16), Aurélia Jacquette (24), Sabine Sigaudy (7), Lucile Pinson (14), Pierre Sarda (14), Anne-Marie Guerrot (23), Massimiliano Rossi (28), Alice Masurel-Paulet (29), Salima El Chehadeh (30), Xavier Piguel (31), Montserrat Rodriguez-Ballesteros (1), Stéphanie Ragot (32), Stanislas Lyonnet (33, 34), Frédéric Bilan (1), Brigitte Gilbert-Dussardier (1)

1. Génétique Médicale, CHU de Poitiers, Poitiers, France
2. EA 3808, Université de Poitiers, Poitiers, France
3. Pédiatrie, Hopital Universitaire Necker-Enfants Malades, Paris, France
4. Unité INSERM 1178/1018-CESP, Université Paris Descartes, Paris, France
5. Département de Génétique, Hopital Universitaire Necker-Enfants Malades, Paris, France
6. INSERM U1163, Laboratoire d'Embryologie et de Génétique des Malformations Congénitales, Sorbonne Paris Cité et Institut Imagine, Université Paris Descartes, Paris, France
7. Génétique Médicale, AP-HM, Marseille, France
8. Génétique Médicale, CHU d'Angers, Angers, France
9. Génétique Médicale, CHU de Strasbourg, Strasbourg, France
10. Génétique Médicale, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France
11. Génétique Médicale, CHU de Tours, Tours, France
12. Génétique Médicale, CHU de Toulouse, Toulouse, France
13. Génétique Médicale, CH du Mans, Le Mans, France
14. Génétique Médicale, CHU de Montpellier, Montpellier, France
15. Génétique Médicale, CHU de Nancy, Nancy, France
16. Génétique Médicale, CHU de Rennes, Rennes, France
17. Génétique Médicale, CHu de Grenoble, Grenoble, France
18. Génétique Médicale, CHU de Nantes, Nantes, France
19. Centre de Référence Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs, FHU TRANSLAD, CHU de Dijon, Dijon, France
20. Génétique Médicale, CHRU de Lille, Lille, France
21. Génétique Médicale, CHU de Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, France
22. Génétique Médicale, CHU d'Amiens, Amiens, France
23. Génétique Médicale, CHU de Rouen, Rouen, France
24. Génétique Médicale, CHU Pitie-Salpetriere, Paris, France
25. Génétique Médicale, CHU de Brest, Brest, France
26. Génétique Médicale, CHU de Saint-Etienne, Saint-Etienne, France
27. Génétique Médicale, CH du Havre, Le Havre, France
28. Génétique Médicale, CHU de Lyon, Bron, France
29. Génétique Médicale, CHU de Dijon, Dijon, France
30. Centre de Référence Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs, FHU TRANSLAD, CHRU de Strasbourg, Strasbourg, France
31. Endocrinologie, CHU de Poitiers, Poitiers, France
32. Centre d'Investigation Clinique; INSERM, CIC 1402, CHU de Poitiers, Poitiers, France
33. Département de Génétique, Hôpital Universitaire Necker-Enfants Malades, AP-HP, Paris, France
34. INSERM U1163, Laboratoire d'Embryologie et de Génétique des Malformations Congénitales, Sorbonne Paris Cité et Institut Imagine, Paris, France

Mots clefs : syndrome CHARGE, CHD7, génotype, phénotype

Résumé :

Le syndrome CHARGE est une affection génétique rare et habituellement sporadique initialement décrit par Hall and Hittner et al. en 1979 comme l'association d'un colobome, d'une cardiopathie, d'une atrésie des choanes, d'un retard de croissance et de développement, d'une hypoplasie génitale et d'une anomalie de l'oreille avec surdité. En 2001 puis 2006, Amiel et al. et Marimoto et al. rapportaient l'atteinte des canaux semi circulaires (CSC) et l'arhinencéphalie comme des éléments fréquents du

syndrome. En 2004, les mutations dans le gène *CHD7* ont été identifiées comme principales responsables du syndrome. Le taux de détection d'anomalie dans ce gène varie selon les études de 67% à 90%. Une meilleure connaissance du syndrome et la découverte du gène *CHD7*, ont permis de proposer une classification du phénotype des patients comme typique, partiel ou atypique sur la base de la présence de critères diagnostiques mineurs et majeurs dont la définition a été plusieurs fois remaniée au cours des années.

Nous avons mené une étude nationale sur 119 patients afin de décrire précisément le phénotype de ce syndrome hétérogène et étudier une éventuelle corrélation avec le génotype identifié. Les critères diagnostiques retenus étaient ceux de Verloes (2005) actualisés par Blake et al. en 2006 puis Sanlaville et Verloes en 2007. Afin d'obtenir une description phénotypique détaillée, les patients bénéficiaient, lorsque cela était possible, d'un examen ophtalmologique complet, d'une audiométrie, d'un scanner des rochers, de l'étude de l'axe gonadotrope et d'une IRM cérébrale avec visualisation des bulbes olfactifs.

Dans notre cohorte, nous n'avons trouvé aucune forme partielle et seulement 10% de formes atypiques. Les atteintes les plus fréquemment observées étaient la surdité/ l'hypoplasie des canaux semi-circulaires (94%), l'hypogonadisme ou l'insuffisance hypophysaire (89%), les anomalies de l'oreille externe (87%), le visage carré (81%) et l'arhinencéphalie ou l'anosmie (80%). Le colobome (73%) les cardiopathies (65%) et l'atrésie des choanes (43%) étaient moins fréquents.

L'étude de *CHD7* (séquençage et MLPA) a été réalisée chez tous les patients et un variant pathogène a été identifié chez 83% des patients présentant un phénotype typique (90% de notre cohorte) et 58% des patients avec un phénotypique atypique (10%). La surdité et l'agénésie des CSC étaient significativement plus fréquentes dans les cas avec mutation de *CHD7*, ce qui n'était pas le cas pour les autres atteintes. Bien que nous n'ayons pas trouvé de différence significative en termes de pronostic, les malformations cardiaques et cérébrales et les atteintes des nerfs crâniens étaient plus fréquentes en cas de mutations tronquantes qu'en cas de mutation non-troncantes.

Dans 21% des cas aucune mutation n'a été identifiée et une étude par WES est en cours pour ces patients pour lesquels l'existence de mutations introniques « profondes » de *CHD7* n'est pas exclue.

P683 : Le rat comme modèle d'étude de maladies génétiques humaines

Auteurs :

Laurent Tesson (1), Séverine Remy (1), Severine Ménoret (1), Laure-Hélène Ouisse (1), Claire Usal (1), Vanessa Quillaud-Chenouard (1), Aude Guiffès (1), Ignacio Anegon (1)

1. Plateforme TRIP, INSERM UMR 1064-ITUN, Nantes, France

Mots clefs : rat, nucléases, CRISPR-Cas9, modèle, maladies génétiques

Résumé :

Depuis une décennie, l'émergence de plusieurs technologies d'édition du génome (ZFNs, TALENs, méganucléases, CRISPR-Cas9) a permis de générer diverses modifications génétiques. Le rat est un modèle expérimental très largement utilisé dans de nombreux domaines (Meek et al., Mamm. Genome 2017). Comme beaucoup d'autres espèces pour lesquelles les cellules ES n'étaient pas disponibles, le modèle rat vit une véritable révolution de génomique fonctionnelle. Suite à la coupure de l'ADN double-brins de ces nucléases, nous avons maintenant la possibilité de générer de nombreux modèles de rat du plus simple au plus complexe : des extinction de gènes (KnockOut) via le processus de jonction des extrémités non-homologues (NHEJ), enclin à faire des erreurs de réparation, des insertions ciblées (KnockIn) avec des oligonucléotides (<120 bases) ou des KI avec des fragments plus longs via la recombinaison homologue permettant une réparation précise (Mashimo T. et al., Dev. Growth Differ. 2013).
Sur la plateforme TRIP (Transgenese Rat ImmunoPhenomique) à Nantes, nous générons des rats génétiquement modifiés, modèles de maladies génétiques humaines grâce à ces outils. Nous avons notamment utilisé les TALENs pour générer des rats KO pour la dystrophine dans le but de mimer la myopathie de Duchenne. Le phénotype obtenu chez le rat s'avère plus proche des patients comparés aux souris (Larcher et al., PLoS One 2014). Nous avons également généré un modèle KO du gène *Cftr*, responsable de la mucoviscidose, par un KI réalisé avec CRISPR-Cas9 et un oligonucléotide simple-brin entrainant un décalage de cadre de lecture. Une lignée de rats déficiente pour le gène *Aire* (Auto-Immune REgulator) responsable du syndrome APECED (Autoimmune Polyendocrinopathy-Candidiasis-Ectodermal) a été générée par la technologie CRISPR-Cas9.
Nous avons également utilisé ces outils afin de développer des modèles immunodeficients. Une méganucléase ciblant le gène *Rag1* a été utilisée pour générer des rats KO avec un phénotype SCID (Ménoret et al., FASEB J 2013). Des TALENs ont permis d'obtenir des rats KO pour le gène de l'IL2 récepteur (*Il2rg*). Après croisement de ces 2 lignées, nous avons obtenu des rats doubles KO (RRG) présentant un phénotype immunodéficient plus sévère que pour chaque KO seul (absence de cellules T, B et NK, comme les souris NSG). Afin de développer un modèle de rats humanisé, ces doubles KO seront eux-mêmes croisés avec des rats transgéniques pour le *SIRP* alpha humain que nous avons généré avec des BAC (Jung et al., Sci Rep 2016).
La disponibilité de ces nucléases spécifiques, notamment CRISPR-Cas9 dont l'emploi est facile, efficace et d'un coût modéré, nous fournit un outil particulièrement utile pour générer des rats KO et KI pour l'analyse de la fonction d'un gène, générer des modèles de maladies génétiques humaines permettant à terme d'évaluer des approches thérapeutiques et des applications dans le domaine de l'immunologie.

Tesson-Abstract Assises Genetique-Nantes-2018.docx

P684 : Intérêt du séquençage à haut débit pour le diagnostic du Syndrome de Cornelia de Lange et des syndromes avec hypertrichose.

Auteurs :

Sophie Rondeau (1), Marcia Henry (1), Cécile Fourrage (1), Sylvain HANEIN (2), Geneviève Baujat (1), Caroline Michot (1), Arnold Munnich (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. INSERM UMR 1163, Institut Imagine, Paris, France

Mots clefs : Hypertrichose, syndrome de Cornelia de Lange, Syndrome de Wiedemann-Steiner, Syndrome KBG, mosaïque, NGS, NIPBL, KMT2A, ANKRD11

Résumé :

Les syndromes génétiques avec hypertrichose sont nombreux et hétérogènes génétiquement. Les syndromes les plus fréquents sont le syndrome de Cornelia de Lange, le syndrome de Coffin-Siris, le syndrome de Wiedemann-Steiner et le syndrome KBG. Ils sont parfois difficilement différenciables cliniquement.
Nous présentons une série de 55 patients chez lesquels les gènes *ABCC9, AFF4, ANKRD11, ARID1A, ARID1B, CREBBP, EP300, ESCO2, HDAC8, KCNJ8, KMT2A, MRPS22, NAA10, NIPBL, RAD21, SMARCA4, SMARCB1, SMARCA2, SMARCE1, SMC1A, SMC3* et *TAF6* ont été étudiés par séquençage à haut débit ciblé. La rentabilité diagnostique est de 49 % avec des mutations identifiées dans les gènes *NIPBL* (41%), *ANKRD11* (22%), *KMT2A* (22%), *ARID1B* (7%), *SMC1A* (4%) et *SMC3* (4%). Avec 11 mutations identifiées, *NIPBL* est le gène majoritairement muté dans cette cohorte. Une des mutations a été retrouvée à l'état de mosaïque (25%) dans l'ADN extrait de cellules buccales et absente dans l'ADN extrait des leucocytes de la patiente. Des mutations dans les gènes *ANKRD11* et *KMT2A* ont été identifiées chez 6 patients chacun. Parmi ces 12 patients, 5 patients avaient été étiquetés cliniquement Cornelia de Lange.
Ces résultats soulignent l'importance 1/ de l'étude simultanée des gènes connus comme étant impliqués dans les syndromes avec hypertrichose afin de contourner le problème des diagnostics différentiels 2/ d'étudier en première intention l'ADN extrait des cellules buccales chez les patients présentant un syndrome de Cornelia de Lange clinique. La profondeur de lecture offerte par le NGS permet la détection de faibles taux de mosaïcisme inaccessibles au séquençage conventionnel. Cette étude nous a enfin permis de constituer une cohorte relativement homogène de patients utilisables pour l'identification de nouveaux gènes impliqués dans les syndromes avec hypertrichose.

P685 : Le "RENOME" : Un panel de séquençage ciblé pour les maladies rénales en diagnostic moléculaire

Auteurs :

Vincent Moriniere (1, 2), Carole Tournant (1), Sylvain Hanein (3), Laurence Heidet (2, 4), Corinne Antignac (3, 1)

1. Service de Génétique Moléculaire, APHP Necker-Enfants Malades, Paris, France
2. Centre de référence des Maladie Rénales Héréditaires de l'Enfant et de l'Adulte, APHP Necker-Enfants Malades, Paris, France
3. Inserm UMR-1163, Institut Imagine, Paris, France
4. Service de Néphrologie Pédiatrique, APHP Necker-Enfants Malades, Paris, France

Mots clefs : Séquençage haut débit, NGS, Diagnostic, NextSeq, Capture, Panel, Rein

Résumé :

Le service de génétique de l'hôpital Necker effectue depuis de nombreuses années des tests génétiques pour de nombreuses néphropathies héréditaires impliquant les différents segments du néphron: glomérule (syndrome d'Alport et syndrome néphrotique cortico-résistant), interstitium et tube distal (néphronophtise et néphropathies tubulointerstitielles chroniques) ainsi que celles dues à des anomalies du développement (Congenital Anormalies of the Kidney and Urinary Tract _CAKUT), ou des maladies kystiques (ciliopathies).
Après plusieurs années de diagnostic par NGS, utilisant 5 panels et 3 méthodes d'enrichissements différents: Capture (SureSelect d'Agilent), PCR Multiplex (Multiplicom et Ampliseq de Life Technologies), nous avons décidé de créer un panel unique, appelé RENOME. Celui-ci est basé sur la technologie de capture SureSelect, il a été dessiné dans le laboratoire via l'interface SureDesign d'Agilent et couvre 1,117 Mb. Il contient 225 gènes publiés et confirmés pour leur implication dans une pathologie rénale. Il a été découpé en 6 sous-panels: Hypo-Dysplasies (HYP_76 gènes), Syndromes Néphrotiques (NCR_65 gènes), Syndrome d'Alport (ALP_3 gènes), Dysgénésie Tubulaire Rénale (DYS_4 gènes), Polykystoses (PK_2 gènes) et Ciliopathies (NPH_91 gènes). Parmi ces sous-panels, 16 gènes sont communs à plusieurs pathologies. Les ADN sont fragmentés via un Covaris, indexés avec le kit UltraLow DNA (NuGEN). La capture est réalisée sur un pool de 20 patients, puis 2 pools soit 40 patients sont séquencés sur un NextSeq500 en paired-end (2x150pb) avec un kit HighInput. Sur les 225 gènes, 98,7% des régions ciblées sont couvertes au moins 30X, avec une profondeur moyenne de 664 reads pour la dernière série.
Depuis mars 2017, 193 ADN ont été testés et en fonction des informations cliniques, les patients ont été analysés sur le sous-panel correspondant soit 81 HYP, 49 NCR, 34 ALP, 21 NPH, 4 PK, 2 DYS et 2 sur tous les panels. A ce jour, des mutations ont été identifiées chez 77 patients soit 39,9% du total, avec la répartition suivante: 18 HYP (22,2%), 21 NCR (42,9%), 25 ALP (73,5%), 9 NPH (42,3%), 3 PK (75%) et 1 DYS (50%).
De façon intéressante, des mutations dans les gènes du sous panel NCR ont été identifiées chez 6 patients adressés pour un syndrome d'Alport et inversement des mutations dans les gènes du syndrome d'Alport ont été retrouvées chez 5 patients avec une protéinurie glomérulaire. Aucun variant significatif n'a pu être mis en évidence pour les 116 patients restants. Une analyse complémentaire peut être proposée en Recherche, grâce à un panel Ciliome (NPH et PK) de 1320 gènes, et à un panel Cakutome (CAKUT) de 380 gènes.
L'utilisation d'un panel unique a permis de raccourcir le délai de rendu grâce à un seul protocole pour toutes les pathologies rénales. Il permet de mettre en évidence des mutations dans des gènes impliqués dans plusieurs pathologies et de trouver des mutations chez des patients dont le diagnostic clinique était mal orienté (14%).

Assises-Vincent-Renome-final.docx

P686 : La bioinformatique à l'Assistance Publique – Hôpitaux de Paris : défis et solutions

Auteurs :

Mathieu Barthélémy (1), Camille Barette (1), Jocelyn Brayet (1), Romain Daveau (1), Vivien Deshaies (1), Alban Lermine (1)

1. DSI/WIND/Bioinformatique, Assitance Publique - Hôpitaux de Paris, Paris, France

Mots clefs : Plateforme bioinformatique, NGS, Diagnostic, Services, Organisation opérationnelle

Résumé :

Au cours des dernières années, le diagnostic moléculaire a été révolutionné par l'apparition de techniques de séquençage à haut débit (NGS). Ces techniques permettent d'effectuer une analyse diagnostique sur plusieurs dizaines de patient en très peu de temps. Cette révolution et la démocratisation des techniques NGS représente un défi pour tous les hôpitaux du monde. Le défi est particulièrement important au niveau de l'analyse du flux des données générées et de l'interprétation des résultats issus de ces données.
L'AP-HP a récemment créé une plateforme de bioinformatique pour répondre au besoin d'analyse de données NGS en diagnostic pour ses 39 hôpitaux. Cette plateforme a pour objectif de proposer une activité de services et d'expertises face aux difficultés rencontrées localement dans la gestion informatique du séquençage ADN, cela correspond notamment aux missions suivantes : (i) la constitution d'une offre de service de stockage et d'analyse des données dans le cadre de processus maitrisés et normalisés, avec notamment la constitution d'un cluster de calcul ainsi que le développement en open source de solutions logicielles pertinentes, (ii) la mise à disposition d'outils de visualisation et d'exploitation des résultats, permettant par exemple l'annotation de variants pathogènes ou la génération d'un compte-rendu bioinformatique de l'analyse, (iii) l'animation d'une communauté bio-informatique sur le territoire regroupant plusieurs dizaines d'ingénieurs, autour de séminaire et de formations, (iv) le support technique et scientifique, (v) la veille technologique.
Nous nous proposons de présenter d'une part l'organisation opérationnelle définie pour cette plateforme et d'autre part les différents services offerts aux hôpitaux de l'AP-HP.

P687 : Caractérisation clinique et moléculaire d'un cas de Syndrome d'Emanuel survenu de Novo

Auteurs :

Wafa Slimani (1), Afef Jelloul (1), Sarra Dimassi (2), Najoua Kahloul (3), Thomas Liehr (4), 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 cytogénétique et Biologie de la Reproduction, Hôpital universitaire Farhat Hached , Sousse, Tunisie
3. Service de Pédiatrie, Hôpital universitaire Farhat Hached , Sousse, Tunisie
4. Génétique Humaine, Institut de génétique Humaine, Iéna, Allemagne

Mots clefs : Syndrome d'Emanuel, CGH array, FISH

Résumé :

Le syndrome d'Emanuel (ES) est causé le plus souvent par une translocation équilibrée entre les chromosomes 11 et 22 chez l'un des parents. Les porteurs des translocations équilibrées t (11, 22) sont phénotypiquement normaux. Cependant, il existe un risque de syndrome ES variant entre 2 et 6% pour leur progénitures manifesté par la présence d'un chromosome marqueur surnuméraire (CMS) dérivé du chromosome 22. Ici nous rapportons le cas d'une fille âgée de 2 mois qui s'est présentée avec un retard de croissance, un retard staturopondérale, une cardiopathie congénitale, une dysmorphie faciale et une microcéphalie. Le caryotype conventionnel en band R fait chez la patiente et ses parents a montré la présence d'un CMS de façon homogène et de Novo. La CGH array a montré deux gains de 115Mb et 2.43 Mb sur les chromosomes 11 et 22 respectivement. Ces résultats ont été complétés par FISH avec les sondes peintures des chromosomes 11 et 22. Dans le cas présent les caryotypes des parents sont normaux ce qui témoigne le caractère de Novo de ce marqueur. Il existe peu de report de der(22) résultant d'un translocation t(11; 22) de novo dans la lignée germinale paternelle avec une ségrégation déséquilibrée et une non disjonction maternelle du chromosome 22 dans la méiose I.

Assise 2017 Der 22.docx

P688 : Plan France Médecine Génomique 2025 : Le projet de la plateforme pilote AURAGEN

Auteurs :

AURAGEN AURAGEN (1), Damien SANLAVILLE (2), Jean-Yves Blay (3)

1. AURAGEN, AURAGEN, AURA, France
2. Service de Génétique, Laboratoire de Cytogénétique, CHU de Lyon,, HCL, Lyon, France
3. CLCC Léon Bérard, Lyon, France, CLB, Lyon, France

Mots clefs : France Médecine Génomique 2025, Séquençage très haut débit, WGS, Cancer, Maladies rares

Résumé :

Dans le cadre du plan France Médecine Génomique 2025, un comité scientifique international a retenu deux projets de plateforme pilote de séquençage à très haut débit. Le 17 juillet 2017, le Premier ministre, Edouard Philippe a annoncé les deux lauréats : le projet Parisien SeqOIA et le projet de la région Auvergne Rhône Alpes AURAGEN.
Nous présentons ici le projet de la plateforme pilote AURAGEN qui regroupe au sein d'un Groupement de Coopération Sanitaire (GCS) les 4 CHU de la région (Clermont-Ferrand, Grenoble, Lyon et Saint Etienne), le Centre Léon Bérard, le Centre Jean Perrin et l'Institut de Cancérologie de la Loire. Les 4 universités de la région et l'école des Mines sont associées au projet dans le cadre d'un consortium de même que le laboratoire Eurofins – Biomnis, le partenaire privé associé au projet dans le cadre d'un accord de collaboration entre laboratoires de biologie médicale.
Conformément au cahier des charges, la plateforme AURAGEN a une vocation nationale traitera des échantillons provenant de patients atteints d'un cancer ou d'une maladie rare, avec une définition des priorités qui sera établie dans les prochains mois. Le projet est décliné sur 5 ans avec une montée en charge du nombre de prélèvements pour aboutir la 3° année à la production à 18 000 équivalents génomes.
Le projet AURAGEN comprend 5 axes : 1) Pré analytique dont l'objectif est de participer à la réflexion sur les indications et assurer l'acheminement des prélèvements ; 2) Analytique qui est destiné à mettre en place une plateforme de séquençage de type industrielle ; 3) Post analytique incluant les composantes informatiques, bio-informatique et bio statistique ; 4) Gestion du projet et aspects médico-économique : Evaluation des impacts de l'organisation pilote proposée. Centrée sur deux indications, les cancers de mauvais pronostic et les épilepsies monogéniques, cette évaluation comporte trois volets : i) organisationnel, ii) efficience, iii) impact budgétaire. 5) Formation et enseignement permettant un transfert de compétence de la plateforme vers les différents utilisateurs.
Le projet est construit autour du patient avec une implication forte des structures locales. Un parcours de soins partant du patient pour un retour au patient est proposé s'appuyant sur les filières de soins pour les maladies rares, les réseaux régionaux et nationaux (INCa) pour les tumeurs rares. Les filières de soins et l'INCa ayant un rôle majeur à jouer dans la définition d'indications via des arbres décisionnels en attendant les recommandations de la HAS.
La mise en production de la plateforme AURAGEN est prévue pour fin 2018. Néanmoins, les laboratoires et professionnels régionaux conserveront une place prépondérante dans la gestion des patients en termes d'indications thérapeutiques, d'inclusion dans des essais cliniques ou conseil génétique. Enfin les enjeux éthiques seront abordés en lien avec les réflexions nationales et la révision de la loi de bioéthique en 2018

résumé assises Nantes AURAGENv2 soumis.docx

P689 : Aspects anatomique et génétique des malformations congénitales dans deux hôpitaux de référence de Cotonou

Auteurs :

leila DANGOU (1), Falilatou AGBEILLE MOHAMED (2)

1. pediatrie, centre hospitalier universitaire Hubert Manga cotonou, cotonou, Bénin
2. pediatrie, centre hospitalier universitaire departemental du Borgou, Parakou, Bénin

Mots clefs : malformations congénitales, génétique, Protée, Conelia de Lange, Patau.

Résumé :

Introduction : Les malformations congénitales (MC) constituent un véritable problème de santé publique à cause du taux élevé de létalité qu'elles entrainent. Chaque année, 270 000 nouveau-nés meurent avant l'âge de 28 jours pour cause de malformations congénitales.
Objectifs : Etudier les malformations congénitales et la part de la génétique parmi elles au CNHU/HKM et au CHU-MEL.
Méthodes : Il s'agissait d'une étude descriptive réalisée pendant la période allant du 1er avril au 31 août 2015 dans les deux hôpitaux de référence de Cotonou (R.Bénin). Cette étude a consisté en une description et une classification (selon la classification internationale des maladies CIM-10) des malformations cliniquement visibles recensées au cours de la période. Une fiche de recueil a été remplie pour chaque enfant comportant les données sociodémographiques, obstétricales et cliniques. Les malformations considérées sont celles qui sont cliniquement décelables.
Résultats : 24 enfants présentant des MC ont été recensés. L'incidence globale des MC était de 0,86%. La majorité des mères des enfants portant une MC avaient un âge compris entre 20 et 35ans. Le sexe masculin était majoritaire (n=15). Les malformations les plus fréquentes étaient celles du système ostéo-articulo-musculaire (n=7) et du système nerveux (n=5). Les syndromes de Protée, de Cornelia de Lange, de Patau et les anomalies de différenciation sexuelles étaient les maladies d'origine génétique retrouvées.
Mots clés : malformations congénitales, génétique, Protée, Conelia, Patau.

P690 : Marfanoid habitus is a nonspecific feature of Perrault syndrome

Auteurs :

Maria Zerkaoui (1), Leigh Demain (2, 3), Imane Cherkaoui Jaouad (4), Ilham Ratbi (5), Karima Amjoud (6), Jill Urquhart (2, 3), James O'Sullivan (2, 3), William Newman (2, 3), Abdelaziz Sefiani (5)

1. Département de Génétique Médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Maroc
2. Division of Evolution and Genomic Sciences, Faculty of Biology, Medicine and Health, School of Biological Sciences, University of Manchester, Manchester, Royaume Uni
3. Manchester Centre for Genomic Medicine, Central Manchester University Hospitals NHS Foundation Trust, Manchester Academic Health Sciences Centre., Manchester, Royaume Uni
4. Département de Génétique Médicale, Institut National d'Hygiène , Rabat, Maroc
5. Centre de Génomique Humaine, Université Mohammed V, Rabat, Maroc
6. Department of Endocrinology, Diabetology and Nutrition, Avicenna Hospital, Mohammed V University in Rabat, Rabat, Maroc

Mots clefs : hearing loss, LARS2, Perrault syndrome, primary ovarian insufficiency

Résumé :

The objective of this study was to report the clinical and biological characteristics of two Perrault syndrome cases in a Moroccan family with homozygous variant c.1565C > A in the LARS2 gene and to establish genotype–phenotype correlation of patients with the same mutation by review of the literature. Whole-exome sequencing was performed. Data analysis was carried out and confirmed by Sanger sequencing and segregation. The affected siblings were diagnosed as having Perrault syndrome with sensorineural hearing loss at low frequencies; the female proband had primary amenorrhea and ovarian dysgenesis. Both affected individuals had a marfanoid habitus and no neurological features. Both patients carried the homozygous variant c.1565C > A; p.Thr522Asn in exon 13 of the LARS2 gene. This variant has already been reported as a homozygous variant in three other Perrault syndrome families. Both affected siblings of a Moroccan consanguineous family with LARS2 variants had low-frequency sensorineural hearing loss, marfanoid habitus, and primary ovarian insufficiency in the affected girl. According to the literature, this variant, c.1565C > A; p.Thr522Asn, can be correlated with low-frequency hearing loss. However, marfanoid habitus was been considered a nonspecific feature in Perrault syndrome, but we believe that it may be more specific than considered previously. This diagnosis allowed us to provide appropriate management to the patients and to provide more accurate genetic counseling to this family.

Poster Marfanoid habitus is a nonspecific feature of Perrault syndrome.docx

P691 : Dysplasie Diastrophique : Première série marocaine colligée au CHU de Marrakech

Auteurs :

Maria Mansouri (1), Meriem Elqabli (1), Hassane Akallakh (1, 2), Nissrine Aboussair (1, 2)

1. service de génétique, centre de recherche clinique, CHU de Marrakech, marrakech, Maroc
2. Faculté de médecine et de pharmacie de Marrakech,, Université Cadi Ayyad, marrakech, Maroc

Mots clefs : Dysplasie diastrophique, autosomique récessive, DTDST

Résumé :

La dysplasie diastrophique est une maladie rare caractérisée par une petite taille avec des extrémités courtes et des malformations des articulations conduisant à des contractures articulaires. Le tableau clinique est marqué par un retard statural, des déformations articulaires souvent sévères et une scoliose à développement progressif. Une fente palatine, une hypoplasie mandibulaire avec des kystes au niveau de l'oreille externe peuvent être observés. Le diagnostic est radiologique basé sur la présence des os tubulaires courts et massifs, des métaphyses élargies, des premiers métacarpiens courts et ovoïdes et surtout une subluxation du pouce. Il s'agit d'une maladie autosomique récessive due à des mutations du gène *SLC26A2* (*DTDST*) qui code un transporteur de sulfate particulièrement exprimé dans le cartilage.
Nous rapportons les données cliniques de deux patients âgés de 7 et 3ans, consanguins, qui présentent un retard statural à -3DS, des membres courts, des articulations contractées, une scoliose, un kyste cartilagineux de l'oreille externe et un pouce en abduction. Les signes radiologiques de nos deux patients sont en faveur d'une dysplasie diastrophique et l'étude moléculaire du gène *DTDST* a permis de confirmer le diagnostic de la dysplasie diastrophique chez nos deux patients.

Nous discutons à travers ce travail les aspects cliniques et génétiques de la dysplasie diastrophique à propos de la première série marocaine colligée au service de génétique du CHU Mohammed VI de Marrakech.

P692 : Syndrome de Goltz: aspects cliniques et génétiques à propos de trois familles marocaines

Auteurs :

Maria Mansouri (1), Mariam Tajir (1, 2), Hassane Akallakh (1, 3), Kenza Dafir (1, 4), fatima zohra Bouzid (1, 3), s amal (5, 4), Ouafa Hocar (5, 4), Nissrine Aboussair (1, 3)

1. service de génétique, centre de recherche clinique, CHU de Marrakech, marrakech, Maroc
2. département de génétique, faculté de médecine et de pharmacie de Oujda, Oujda, Maroc
3. Faculté de médecine et de pharmacie de Marrakech,, Université Cadi Ayyad, marrakech, Maroc
4. Faculté de médecine et de pharmacie de Marrakech,, Université Cadi Ayyad, marrakech, Maroc
5. service de dermatologie, CHU de marrakech, marrakech, Maroc

Mots clefs : Syndrome de Goltz, hypoplasie dermique en aires, Transmission dominante liée a l'X

Résumé :

Le syndrome de Goltz nommé aussi hypoplasie dermique en aires est une atteinte cutanée polymorphe associée à des anomalies des yeux, du squelette et du système nerveux central. Les signes cliniques comportent des zones d'atrophie cutanée et des papillomes périorificiels, prédominant autour de la bouche et des régions génitale et/ou anale. Une onychodystrophie et une alopécie cicatricielle sont typiques. Il existe souvent une atteinte squelettique, à type de syndactylie, d'ectrodactylie et/ou d'aplasie des doigts et des orteils avec des déformations thoraciques et des anomalies dentaires. L'atteinte oculaire et le retard psychomoteur sont souvent observés. Ce syndrome est rare avec une transmission dominante liée à l'X et un risque théorique de récurrence dans la descendance de 50%. Un seul gène, le gène *PORCN*, est actuellement lié à ce syndrome. Le diagnostic est essentiellement clinique mais la confirmation est moléculaire.
Nous rapportons les données cliniques de deux cas sporadiques et un cas familial présentant un tableau typique du syndrome de Goltz. Nos quatre patientes présentent des anomalies dermatologiques incluant une atrophie cutanée et des hernies du tissu adipeux sous-cutané typiques du syndrome de Goltz. La dysmorphie faciale, les anomalies squelettiques et oculaires sont présents chez toutes nos patientes. Il est à noter que le retard psychomoteur est présent seulement chez deux patientes. L'analyse moléculaire du gène *PORCN* est envisagée chez nos malades.
Nous discutons a travers ce travail les aspects cliniques et génétiques du syndrome de Goltz a travers la première série de malades du CHU de Marrakech.

P693 : Hétérotopie nodulaire périventriculaire et FLNA : il faut penser aux anomalies de dosage génique !

Auteurs :

Caroline DEILLER (1), Julie DEFORGES (2), Marie-Laure VUILLAUME (3), Jérôme TOUTAIN (4), Gwenaelle DELMOTTE (2), Julie BOURON (2), Cécile BOUCHER (2), Caroline ROORYCK-THAMBO (2, 5), Cyril GOIZET (1, 6), Isabelle COUPRY (5), Patricia FERGELOT (2, 5)

1. Génétique Médicale, CHU Bordeaux, Bordeaux, France
2. Plateau Technique de Biologie moléculaire, laboratoire de génétique moléculaire, Groupe Hospitalier Pellegrin, Bordeaux, France
3. Service de Génétique Médicale, Hôpital Bretonneau, CHRU Tours, Tours, France
4. PLateau Technique de Biologie, Laboratoire de cytogénétique, Groupe Hospitalier Pellegrin, Bordeaux, France
5. Laboratoire MRGM, INSERM U1211, Université de Bordeaux 2, Bordeaux, France
6. Laboratoire MRGM, INSERM U1211, université de Bordeaux 2, Bordeaux, France

Mots clefs : hétérotopie nodulaire périventriculaire, filaminopathie, NGS, CGH-Custom, diagnostic

Résumé :

Le gène *FLNA* (OMIM *300017), localisé en Xq28, comprend 48 exons dont 47 codants et s'étend sur 33 kb. Il est impliqué dans un spectre de pathologies du développement variées, allant des syndromes oto-palato-digitaux aux anomalies de migration neuronale. Des mutations perte de fonction ont été rapportées dans des tableaux d'hétérotopie nodulaire périventriculaire (HNP) le plus souvent révélée par une épilepsie. On rencontre des formes isolées ou syndromiques, associées à un syndrome d'Ehlers-Danlos, une macrothrombopathie, des signes cardio-vasculaires ou une pseudo-obstruction intestinale chronique. *FLNA* est impliqué dans près de 100% des HNP familiales. Le domaine fonctionnel de liaison à l'actine est le siège de mutations récurrentes mais de multiples mutations ont été également décrites tout au long de ce gène. Classiquement recherchées chez les filles atteintes d'HNP, les mutations de *FLNA*, homogènes ou en mosaïque, ont une fréquence non négligeable chez les individus de sexe masculin dans notre cohorte bordelaise(près de 5% des patients et leurs apparentés).
Aujourd'hui, le gène *FLNA* est analysé en première intention par séquençage nouvelle génération en cas d'HNP typique frontale bilatérale et volontiers asymétrique, d'autant plus en cas d'antécédents familiaux. Les résultats de ce premier criblage peuvent néanmoins être négatifs même en cas de phénotype évocateur. Il a été décrit des délétions intra-géniques chez des patientes avec une HNP classique (Clapham et *al*., *Neurology*, 2012). Dans ce contexte, nous avons mis en place la recherche des remaniements intra-géniques, dans un premier temps chez les patientes avec une HNP évocatrice de filaminopathie A, par la technique de CGH-array ciblée à haute résolution sur microréseau Agilent, complétée par les techniques de QMF-PCR ou qPCR.
Dans notre cohorte de 184 cas index féminins et 11 fœtus masculins et féminins porteurs d'HNP typique sans mutation ponctuelle, nous avons retrouvé 10 patients porteurs d'une anomalie de dosage génique, incluant 7 délétions dont 3 en mosaïque, 1 duplication et 2 réarrangements complexes intra-géniques, allant de 2 à 58 kb. La récurrence de ces anomalies pourrait être le reflet d'une zone d'instabilité dans la séquence nucléotidique du gène *FLNA* favorisant les remaniements.
A la lumière de ces observations, il convient donc, devant un tableau typique d'HNP évocateur d'une filaminopathie A sans variant ponctuel identifié dans le gène *FLNA,* de rechercher une anomalie de dosage génique chez les patients, et ce pour les deux sexes.

FLNA Abstract v2.docx

P694 : « AnDDI-Collaboration » : un espace dédié aux collaborations dans le champ des anomalies du développement et de la déficience intellectuelle de causes rares

Auteurs :

Laurent Demougeot (1), Céline Vernin-Dampfhoffer (2), Jeanne Amiel (3), Séverine Audebert-Bellanger (4), Daniel Amram (5), Dominique Bonneau (6), Nicolas Chassaing (7), Gérard Chiesa (8), Patrick Collignon (9), Benoit de Courtivron (10), Capucine de Lattre (2), Andrée Delahaye-Duriez (11), Martine Doco-Fenzy (12), Bérénice Doray (13), Patrick Edery (2), Franck Fitoussi (14), Christine Francannet (15), Jérôme Gautheron (16), David Geneviève (17), Dominique Germain (18), Brigitte Gilbert-Dussardier (19), Fabienne Giuliano (20), Alice Goldenberg (21), Laetitia houx (22), Brice Ilharreborde (23), Bertrand Isidor (24), Pierre Journeau (25), Hubert Journel (26), Philippe Khau Van Kien (27), Céline Klein (28), Marilyn Lackmy-Port-Lys (29), Didier Lacombe (30), Valérie Layet (31), Franck Launay (32), Cédric Le Caignec (24), Bruno Leheup (25), Dominique Martin-Coignard (33), Sylvie Manouvrier (34), Judith Melki (35), Cyril Mignot (36), Gilles Morin (37), Sylvie Odent (38), Stéphanie Pannier (3), Nicole Philip (32), Amélie Piton (39), Nathaly Quintero-Prigent (40), Joëlle Roume (41), Jérôme Sales de Gauzy (7), Damien Sanlaville (2), Elisabeth Sarrazin (42), Elise Schaefer (43), Alice Taquet (44), Julien Thevenon (45), Renaud Touraine (16), Annick Toutain (10), Alain Verloes (23), Sandra Whalen (14), Lionel Van Maldergem (46), Christel Thauvin-Robinet (1), Laurence Faivre (1)

1. Filière de santé AnDDI-Rares - Centre de référence des anomalies du développement et syndromes malformatifs de l'Est, CHU Dijon, France
2. Filière de santé AnDDI-Rares - Centre de référence des anomalies du développement et syndromes malformatifs du Sud-Est, HC Lyon, Lyon, France
3. Filière de santé AnDDI-Rares - Centre de référence des anomalies du développement et syndromes malformatifs d'Ile-de-France, APHP Necker, Paris, France
4. Filière de santé AnDDI-Rares - Centre de référence des anomalies du développement et syndromes malformatifs de l'Ouest, CHU Morvan, Brest, France
5. Filière de santé AnDDI-Rares - Centre de référence des anomalies du développement et syndromes malformatifs d'Ile-de-France, CHI Créteil, Créteil, France
6. Filière de santé AnDDI-Rares - Centre de référence des anomalies du développement et syndromes malformatifs de l'Ouest, CHU Angers, Angers, France
7. Filière de santé AnDDI-Rares - Centre de référence des anomalies du développement et syndromes malformatifs du Sud-Ouest Occitanie Réunion, CHU Toulouse, Toulouse, France
8. Filière de santé AnDDI-Rares - Centre de référence des anomalies du développement et syndromes malformatifs d'Ile-de-France, IRMA Valenton, Valenton, France
9. Filière de santé AnDDI-Rares - Centre de référence des anomalies du développement et syndromes malformatifs du Sud-Est, CH Toulon, Toulon, France
10. Filière de santé AnDDI-Rares - Centre de référence des anomalies du développement et syndromes malformatifs de l'Ouest, CHU Tours, Tours, France
11. Filière de santé AnDDI-Rares - Centre de référence des anomalies du développement et syndromes malformatifs d'Ile-de-France, APHP Jean Verdier, Bondy, France
12. Filière de santé AnDDI-Rares - Centre de référence des anomalies du développement et syndromes malformatifs de l'Est, CHU Reims, Reims, France
13. Filière de santé AnDDI-Rares - Centre de référence des anomalies du développement et syndromes malformatifs du Sud-Ouest Occitanie Réunion, CHU Réunion, Saint-Denis, France
14. Filière de santé AnDDI-Rares - Centre de référence des anomalies du développement et syndromes malformatifs d'Ile-de-France, APHP Trousseau, Paris, France
15. Filière de santé AnDDI-Rares - Centre de référence des anomalies du développement et syndromes malformatifs du Sud-Est, CHU Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, France
16. Filière de santé AnDDI-Rares - Centre de référence des anomalies du développement et syndromes malformatifs du Sud-Est, CHU Saint-Etienne, Saint-Etienne, France
17. Filière de santé AnDDI-Rares - Centre de référence des anomalies du développement et syndromes malformatifs du Sud-Ouest Occitanie Réunion, CHU Montpellier, Montpellier, France
18. Filière de santé AnDDI-Rares - Centre de référence des anomalies du développement et syndromes malformatifs d'Ile-de-France, APHP Raymond Poincaré, Garches, France
19. Filière de santé AnDDI-Rares - Centre de référence des anomalies du développement et syndromes malformatifs du Sud-Ouest Occitanie Réunion, CHU Poitiers, Poitiers, France
20. Filière de santé AnDDI-Rares - Centre de référence des anomalies du développement et syndromes malformatifs du Sud-Est, CHU Nice, Nice, France
21. Filière de santé AnDDI-Rares - Centre de référence des anomalies du développement et syndromes malformatifs du Nord-Ouest, CHU Rouen, Rouen, France
22. Filière de santé AnDDI-Rares - Centre de référence des anomalies du développement et syndromes malformatifs de l'Ouest, CHU Brest, Brest, France
23. Filière de santé AnDDI-Rares - Centre de référence des anomalies du développement et syndromes malformatifs d'Ile-de-France, APHP Robert Debré, Paris, France
24. Filière de santé AnDDI-Rares - Centre de référence des anomalies du développement et syndromes malformatifs de l'Ouest, CHU Nantes, Nantes, France
25. Filière de santé AnDDI-Rares - Centre de référence des anomalies du développement et syndromes malformatifs de l'Est,

CHRU Nancy, Nancy, France
26. Filière de santé AnDDI-Rares - Centre de référence des anomalies du développement et syndromes malformatifs de l'Ouest, CH Bretagne Atlantique, Brest, France
27. Filière de santé AnDDI-Rares - Centre de référence des anomalies du développement et syndromes malformatifs du Sud-Ouest Occitanie Réunion, CHU Nîmes, Nîmes, France
28. Filière de santé AnDDI-Rares - Centre de référence des anomalies du développement et syndromes malformatifs du Nord-Ouest, CHU Amiens, Amiens, France
29. Filière de santé AnDDI-Rares - Centre de référence des anomalies du développement et syndromes malformatifs d'Ile-de-France, CHU Guadeloupe, Pointe à Pitre, France
30. Filière de santé AnDDI-Rares - Centre de référence des anomalies du développement et syndromes malformatifs du Sud-Ouest Occitanie Réunion, CHU Bordeaux, Bordeaux, France
31. Filière de santé AnDDI-Rares - Centre de référence des anomalies du développement et syndromes malformatifs de l'Ouest, CH Le Havre, Le Havre, France
32. Filière de santé AnDDI-Rares - Centre de référence des anomalies du développement et syndromes malformatifs du Sud-Est, APH Marseille, Marseille, France
33. Filière de santé AnDDI-Rares - Centre de référence des anomalies du développement et syndromes malformatifs de l'Ouest, CHU Le Mans, Le Mans, France
34. Filière de santé AnDDI-Rares - Centre de référence des anomalies du développement et syndromes malformatifs du Nord-Ouest, CHRU Lille, Lille, France
35. Filière de santé AnDDI-Rares - Centre de référence des anomalies du développement et syndromes malformatifs d'Ile-de-France, APHP Kremlin Bicêtre, Kremlin Bicêtre, France
36. Filière de santé AnDDI-Rares - Centre de référence des anomalies du développement et syndromes malformatifs d'Ile-de-France, APHP Pitié Salpétrière, Paris, France
37. Filière de santé AnDDI-Rares - Centre de référence des anomalies du développement et syndromes malformatifs du Nord-Ouest, CHU Amiens Picardie, Amiens, France
38. Filière de santé AnDDI-Rares - Centre de référence des anomalies du développement et syndromes malformatifs de l'Ouest, CHU Rennes, Rennes, France
39. Filière de santé AnDDI-Rares - Centre de référence des anomalies du développement et syndromes malformatifs de l'Est, IGBMC, Strasbourg, France
40. Filière de santé AnDDI-Rares - Centre de référence des anomalies du développement et syndromes malformatifs d'Ile-de-France, Hôpitaux Saint-Maurice, Saint-Maurice, France
41. Filière de santé AnDDI-Rares - Centre de référence des anomalies du développement et syndromes malformatifs d'Ile-de-France, CHI Poissy-Saint-Germain, Poissy, France
42. Filière de santé AnDDI-Rares - Centre de référence des anomalies du développement et syndromes malformatifs du Sud-Ouest Occitanie Réunion, CHU Fort de France, Fort de France, France
43. Filière de santé AnDDI-Rares - Centre de référence des anomalies du développement et syndromes malformatifs de l'Est, CHRU Strasbourg, Strasbourg, France
44. Filière de santé AnDDI-Rares - Centre de référence des anomalies du développement et syndromes malformatifs du Nord-Ouest, SSR Marc Sautelet, Villeneuve-d'Ascq, France
45. Fédération Hospitalo-Universitaire Médecine Translationnelle et Anomalies du Développement (TRANSLAD), CHU Dijon, Dijon, France
46. Filière de santé AnDDI-Rares - Centre de référence des anomalies du développement et syndromes malformatifs de l'Est, CHU Besançon, Besançon, France

Mots clefs : Recherche, Partage de données, Anomalies du développement, Filière de santé maladies rares, AnDDI-Rares

Résumé :

La capacité à recueillir et d'analyser de grandes quantités de données génomiques et cliniques est une formidable opportunité pour en améliorer les connaissances des maladies rares. La quantité de données génomiques augmentant significativement avec l'arrivée du séquençage haut débit (SHD), le partage massif de données cliniques et génomiques apparait primordial. Ainsi, la filière de santé dédiée aux anomalies du développement avec ou sans déficience intellectuelle de causes rares (AnDDI-Rares), a mis en place un espace dédié sur son site internet afin de : 1) dynamiser les collaborations au sein de son réseau, 2) constituer des cohortes nationales, 3) décrire des phénotypes de maladies rares et 4) identifier de nouveaux gènes responsables d'anomalies du développement (AD).
« AnDDI-Collaboration », propose de diffuser des appels à collaboration portant sur la mise en commun de patients présentant des variants dans un nouveau gène ou un gène ultra-rare et la recherche de patients pour participer à des projet de recherche. Chaque requête soumise à l'équipe administratrice est validée puis une notification par mail est envoyée à l'ensemble du réseau AnDDI-Rares.
Depuis la mise en fonction de l'espace AnDDI-Collaboration en janvier 2017, 48 appels à collaboration ont été déposés, soit en moyenne un appel à collaboration tous les 6 jours. Actuellement, 21% des requêtes portent sur une caractérisation phénotypique, 69% sur une recherche de récurrences d'une anomalie ultra-rare et 10% sur une proposition de recrutement de patients dans le cadre d'un projet de recherche. Afin d'évaluer l'intérêt de cette initiative et ses retombées en terme d'inclusions dans des projets de recherche et de publications collaboratives, une enquête a été déployée récemment auprès de chaque soumissionnaire. L'évaluation étant en cours, les résultats seront présentés lors des Assises de Génétique Humaine et Médicale 2018.
L'arrivée du SHD pangénomique *via* le Plan France Médecine Génomique 2025 et ses 2 premières plateformes de séquençage rend d'autant plus nécessaire un partage large des données et fournit un argument supplémentaire à la mise en place de ce type d'initiative. En plus de participer à l'amélioration de la prise en charge des personnes atteintes de maladies rares en optimisant l'accès au diagnostic par l'identification de nouveaux gènes, l'outil AnDDI-Collaboration répond la seconde mission des filières de santé maladies rares : dynamiser la recherche en favorisant les interactions, l'information systématique au réseau et les projets collaboratifs.

P695 : Modifications attendues par les généticiens Français de leur pratique clinique liée à l'arrivée du séquençage haut débit pangénomique dans le diagnostic génétique des maladies du développement

Auteurs :

Laurent Demougeot (1), Françoise Houdayer (2), Aurore Pelissier (3), Julien Thevenon (4), Yannis Duffourd (4), Sophie Nambot (4), Elodie Gautier (4), Christine Binquet (5), Massimiliano Rossi (6), Damien Sanlaville (7), Sophie Béjean (3), Christine Peyron (3), Christel Thauvin-Robinet (4), Laurence Faivre (4)

1. Filière de santé AnDDI-Rares - Centre de référence des anomalies du développement et syndromes malformatifs de l'Est, CHU Dijon, Dijon, France
2. Service de Génétique Médicale, HC Lyon, Bron, France
3. Laboratoire d'économie de Dijon - Ledi, Université de Bourgogne, Dijon, France
4. Fédération Hospitalo-Universitaire Médecine Translationnelle et Anomalies du Développement (TRANSLAD), CHU Dijon, Dijon, France
5. CIC Dijon, CHU Dijon, Dijon, France
6. Filière de santé AnDDI-Rares - Centre de référence des anomalies du développement et syndromes malformatifs du Sud-Est, HC Lyon, Lyon, France
7. Filière de santé AnDDI-Rares - Centre de référence des anomalies du développement et syndromes malformatifs du Sud-Est, HC lyon, Lyon, France

Mots clefs : Pratique clinique, Génétique, Séquençage haut débit, Diagnostic, Maladies rares

Résumé :

Le diagnostic étiologique de maladies génétiques rares telles que les anomalies du développement (AD) avec ou sans déficience intellectuelle (DI) reste encore trop souvent indéterminé. L'arrivée du séquençage haut débit (SHD) entraine un véritable bouleversement de la génétique médicale. Dans la perspective du déploiement de ces nouvelles technologies, une enquête nationale a été menée auprès des généticiens français posant 2 questions en parallèle : Quelles sont les représentations des généticiens français face aux SHD ? Quel serait le coût entrainé par ces analyses chez des patients en errance diagnostique, comparativement aux autres stratégies si cet examen était proposé plus tôt dans la démarche diagnostique, plutôt qu'en dernier recours ?
Pour les représentations des généticiens, un questionnaire de 23 questions a été proposé aux participants du 30ème séminaire de génétique clinique en 2015. L'analyse statistique a été essentiellement descriptive. Parmi les 106 questionnaires renseignés, 48% des répondants ont déjà prescrit des analyses d'exome (WES) mais seulement 14% dans un cadre exclusif de diagnostic. Seuls 25% des médecins interrogés ont déjà eu l'occasion de rendre ce type de résultats, mais les 68% restants se sentent prêts à le faire. Les généticiens attendent principalement du WES une augmentation du nombre de diagnostics étiologiques. 96% des répondants sont conscients que le WES est une technologie qui présente des limites et 74% expriment des craintes quant à son utilisation en pratique médicale.
Pour le coût des analyses, nous avons réalisé une analyse des coûts d'une part sur le bilan dit « classique» et d'autre part sur le WES utilisé en première intention, à partir d'une cohorte de 36 patients porteurs d'une DI sévère. Cette analyse montre que le WES est moins coûteux par rapport aux procédures conventionnelles sur cette population de patients.
L'enquête révèle donc une bonne acceptation de la technique de WES par les généticiens français dès 2015, même si son utilisation dans la pratique médicale soulève quelques craintes. Les principales préoccupations sont liées à la complexité d'interprétation de ces tests et les implications éthiques. Ainsi, conscients des avantages et des limites de ces nouvelles technologies, cette enquête montre que les généticiens seront en mesure d'accompagner au mieux les patients dans le déploiement du SHD pangénomique, d'autant que ces incertitudes diminueront avec la pratique, l'expérience, la formation et l'information. C'est un élément important puisque l'analyse des coûts fait discuter la place du SHD, et en particulier du WES, plus précocement dans le diagnostic étiologique de la DI sévère, plutôt qu'en dernier recours.
Il est ainsi essentiel que les nouvelles générations de médecins, mais également les familles concernées, se familiarisent avec les concepts du SHD qui constituera dorénavant un des versants majeurs d'une nouvelle médecine génomique.

P696 : Diagnostic prénatal, prise en charge postnatale et revue de la littérature du syndrome fémoro-facial

Auteurs :

Céline Klein (1), Philippe Naepels (2), Guillaume Jedraszak (3), Emmanuel Closset (4), Catherine Gondry-Jouet (5), Cica Gbaguidi (6), Benedicte Demeer (7, 8)

1. Département de chirurgie orthopédique pédiatrique, CC MOC, CHU Amiens-Picardie, Amiens, France
2. CPDPN, département de gynécologie-obstétrique, CHU Amiens-Picardie, Amiens, France
3. laboratoire de cytogénétique, CHU Amiens-Picardie, Amiens, France
4. service de gynécologie obstétrique, CH Saint Quentin, saint quentin, France
5. département de radiologie et imagerie médicale, CHU Amiens-Picardie, Amiens, France
6. Département de Chirurgie maxillo-faciale, CC MAFACE, CHU Amiens-Picardie, Amiens, France
7. unité de génétique clinique, CLAD Nord de France / EA 4666, CHU Amiens-Picardie, Amiens, France
8. Laboratoire de génétique moléculaire humaine, institut de Duve, Université Catholique de Louvain, Bruxelles, belgique, France

Mots clefs : syndrome fémoro-facial, hypoplasie fémorale, fente palatine

Résumé :

Le patient, 4ème de la fratrie, est issu de parents non apparentés, avec un antécédent maternel de chirurgie pour «déformation en varus de la jambe gauche». Durant la grossesse, il n'y a eu ni diabète (HGPO négatives), ni prise de toxiques, ni infection maternelle. L'échographie anténatale du 2ème trimestre notait une hypoplasie fémorale bilatérale, avec des mesures fémorales au ¼ de la norme (10 mm, < 1er percentile), associée à des pieds bots. A 29 SA, le scanner osseux fœtal confirmait la restriction sévère de croissance fémorale, ainsi que des vertèbres sacrées anormales, une déviation sacrale, et une position inhabituelle des têtes fémorales. L'ACPA retrouvait une duplication 13q31 de transmission maternelle, de signification inconnue.
Le patient est né à 39 SA, PN : 2kg550/ TN : 36 cm score d'Apgar : 8/10. L'examen postnatal retrouve une hypoplasie fémorale bilatérale, des pieds bots varus équin, et une syndactylie II, III droite; au niveau des membres supérieurs, une clinodactylie V bilatérale, une camptodactylie III droite, et une insertion proximale des pouces. Les ongles sont hypoplasiques. Au niveau facial, il existe une rétrognathie, une fente palatine postérieure, un cou court ; et des fentes palpébrales orientées en haut et en dehors. Le bilan malformatif était sans particularité. A 14 mois, le développement psychomoteur est normal. Le traitement chirurgical de la fente palatine a été réalisé à l'âge de 6 mois, celui des pieds bots est prévu à l'âge de 18 mois. L'ensemble du tableau clinique pré et postnatal est évocateur d'une syndrome fémoro-facial (FFS, OMIM 134780)

Le FFS décrit par Daentl et al en 1975, est défini par une hypoplasie fémorale bilatérale et des particularités faciales caractéristiques - philtrum long, lèvre supérieure fine, micrognathie avec ou sans fente palatine, nez court-. Il peut s'associer de façon variable d'autres malformations, essentiellement cardiaques (20 %), génito-urinaires (60 %), cérébrales, et squelettiques avec notamment une atteinte des membres supérieurs et articulation des épaules décrite dans 75 % des cas-les humérus pouvant être discrètement raccourcis, les amplitudes articulaires des épaules et coudes limitées, et une déformation de type Sprengel fréquemment associée-. Au niveau des membres inférieurs, une absence fibulaire peut exister, ainsi que des anomalies des extrémités. Au niveau rachidien, des anomalies vertébrales sont rencontrées dans 35 % des cas, de type scoliose, hémivertèbre, synostose antérieure des vertèbres lombaires, spina bifida occulta et anomalie de segmentation du sacrum. Les côtes peuvent être anormales, certaines manquantes ou fusionnées. Les anomalies pelviennes incluent des ailes iliaques de petite taille et une hypoplasie ou absence acétabulaire. La grande majorité des cas est sporadique et approximativement 1/3 des patients porteurs de ce syndrome sont des exemples d'embryofoetopathie diabétique. Les bases génétiques de ce syndrome restent inconnues.

assises genetique 2018 FFS 08102017.docx

P697 : Prévalence des anomalies du gène de la plexine A1 dans une série de 286 patients avec hypogonadisme hypogonadotropique congénital (HHC) et syndrome de Kallmann (SK).

Auteurs :

Mélissa N'DEBI (1, 2), Bruno FRANCOU (2, 3), Luigi MAIONE (2, 4), Christophe HABIB (1), Camila BENITO (4), Alexis PROUST (2), Anne GUIOCHON-MANTEL (2, 3), Jérôme BOULIGAND (2, 3), Jacques YOUNG (4, 3)

1. Plateforme d'Expertise Paris Sud Maladies Rares, Hôpitaux Universitaires Paris Sud, APHP., Hôpitaux Universitaires Paris Sud., LE KREMLIN BICETRE, France
2. Service de Génétique Moléculaire, Pharmacogénétique, Hormonologie, Hôpitaux Universitaires Paris Sud, APHP, Le Kremlin Bicêtre., Hôpitaux Universitaires Paris Sud., LE KREMLIN BICETRE, France
3. UMR S 1185 Inserm et Faculté de Médecine Université Paris Sud Paris-Saclay, Le Kremlin Bicêtre., Faculté de Médecine Paris Sud., LE KREMLIN BICETRE, France
4. Service d'Endocrinologie et des Maladies de la Reproduction, Hôpitaux Universitaires Paris Sud, APHP, Le Kremlin Bicêtre, Hôpitaux Universitaires Paris Sud., LE KREMLIN BICETRE, France

Mots clefs : Génétique Moléculaire, NGS, Database, Prévalence.

Résumé :

Contexte: Il y a 4 ans nous avons découvert que le gène de la Sémaphorine 3A (SEMA3A), participant à la migration des neurones à GnRH, était impliqué dans le SK. La SEMA3A exerce son action par une signalisation impliquant un de ses récepteurs, la plexine A1 (PLXNA1). Chez la souris l'altération de plxna1 induit une anomalie des structures olfactives et du contrôle neuroendocrine de l'axe gonadotrope.
Patients: 286 patients avec CHH (202 hommes et 84 femmes) ont été inclus.
Méthodes: Séquençage de nouvelle génération (NGS, exome de ciblé 100 gènes) associé à un nouvel outil bioinformatique permettant l'établissement accéléré de relations génotype phénotype (PythieVar). Analyse de variants par des algorythmes de prédiction (PolyPHEN2, SIFT, UMD-predictor).
Résultats: Sur les 286 propositi, 16 étaient porteurs de variants faux-sens de *PLXNA1* à l'état hétérozygote. Dix variants avaient une prévalence < 1% dont 4 étaient prédits délétères. Les 5 autres variants étaient absents d'ExaC et tous prédits délétères. Excepté un cas, les patients HHC/SK portaient en plus de la mutation PLXNA1 de nombreuses mutations dans d'autres gènes impliqués dans la maladie parmi lesquels *FGFR1, CHD7, PROKR2, SEMA3A, GNRH1, OTUD4, LHX4, SPRY4, GNRHR, KISS1R, IGSF10, SLIT2, NRP2, ROBO3*.
Conclusion: La fréquence élevée(6%) de variants PLXNA1 faux-sens prédits délétères, très rares voire uniques, suggère une contribution significative des altérations de ce gène dans le phénotype HHC/SK. L'association fréquente à d'autres variants impliqués dans la maladie renforce la base oligogénique de cette maladie qui ne peut être établie que par une analyse exhaustive par NGS des gènes HHC/SK.

P698 : Syndrome de Usher :Approche bioinformatique pour l'interpretation des resultats du séquencage à haut débit ou WES

Auteurs :

SAMIA ABDI (1), Mohamed Makrelouf (2), Crystel Bonnet (3), Asma Behlouli (2), Yahia Rous (1), zahida Merad (1), Christine Petit (4), Akila Zenati (2)

1. faculté de medecine , université saad dahleb blida, Blida, Algérie
2. Labo de recherche , CHU BABAELOUED, Alger, Algérie
3. Labo de recherche , Institut de la vision, Paris, France
4. Labo de recherche , Institut de la vision,institut Pasteur, Paris, France

Mots clefs : WES , SIFT ,POLYPHEN 2 , IRIS

Résumé :

Le syndrome de Usher est une anomalie genetique qui est due à des mutations de 10 sortes de genes.
L' etude de ces mutations sur de l'adn de familles algeriennes s'est faite à Paris (institut de la vision) par le sequencage à haut débit qui permet de sequencer tout l'exome humain.
La bioinormatique est indispensable pour l'interpretation des resultats de l'exome.
Elle permet de localiser la mutation sur les chromosomes , sur les genes, de typer ces mutations et de predire en cas de mutation faux sens leur pathogenicité en utilisant des logiciels spécifiques
Cette approche informatique a permis de poser le diagnostic genetique de syndrome de Usher chez des patients algeriens qui doivent etre pris en charge rapidement pour triaiter le double handicap sensoriel des patients atteints/

P699 : Syndrome de Conradi-Hünermann-Happle : nouveau variant d'épissage dans le gène EBP et variabilité phénotypique intrafamiliale.

Auteurs :

Mathilde Pacault (1), Smail Hadj-Rabia (2), Thomas Besnard (1), Caroline Kannengiesser (3), Claire Bénéteau (1), Sébastien Barbarot (4), Xénia Latypova (1), Khaldia Belabbas (5), Antonin Lamazière (6), Stéphane Bézieau (1), Bertrand Isidor (1), Sandra Mercier (1), Mathilde Nizon (1), Stéphanie Leclerc-Mercier (2), Fabienne Dufernez (7), Marie Vincent (1)

1. Service de Génétique Médicale, CHU de Nantes, Nantes, France
2. Service de Dermatologie, Centre de Référence des Génodermatoses (MAGEC), Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France
3. Service de Génétique, Hôpital Bichat, Paris, France
4. Service de Dermatologie, CHU de Nantes, Nantes, France
5. Laboratoire Commun de Biologie et Génétique Moléculaires , Hôpital Saint Antoine, Paris, France
6. Plateforme de Spectrométrie de Masse, ERL Inserm U1157, UMR 7203, Hôpital Saint Antoine, Paris, France
7. Laboratoire de Génétique Biologique, CHU de Poitiers, Poitiers, France

Mots clefs : CDPX2, Syndrôme de Conradi-Hünermann-Happle, gène EBP, anomalie d'épissage, diagnostic prénatal

Résumé :

Des mutations du gène *EBP* sont responsables de la Chondrodysplasie Ponctuée Dominante liée au chromosome X (CDPX2, syndrome de Conradi-Hünermann-Happle; MIM#302960). La CDPX2 est habituellement létale chez l'homme. Son phénotype associe atteintes cutanée (ichtyose linéaire selon les lignes de Blaschko, atrophodermie vermiculée, alopécie en bandes), squelettique (petite taille, ponctuations épiphysaires, raccourcissement rhizomélique et asymétrie des membres) et ophtalmologique (cataracte, microphtalmie). Les quelques patients CDPX2 de sexe masculin rapportés sont porteurs d'une mutation somatique du gène *EBP*.
Nous rapportons l'observation d'une famille dont le cas index était un fœtus de sexe féminin. Une interruption médicale de grossesse a été réalisée à 25 semaines d'aménorrhée, après la découverte échographique d'une atteinte évocatrice de CPDX2 : os longs courts et ponctuations épiphysaires. L'examen fœtopathologique a confirmé les anomalies osseuses sévères, surtout vertébrales et des membres. L'examen cutané était sans particularité. Le séquençage du gène *EBP* a identifié le variant c.301+5G>C dans l'exon 2, prédit pour altérer l'épissage. La ségrégation familiale retrouve ce variant chez la mère, qui présente une petite taille et une ichtyose linéaire discrète, et chez le grand-père maternel à l'état de mosaïque somatique sur peau et sur leucocytes. L'étude des transcrits et l'analyse du variant par approche mini-gène ont montré l'effet délétère du variant. L'inactivation du chromosome X sur leucocytes chez la mère et sur tissu hépatique chez le fœtus, est aléatoire.
Cette observation illustre la variabilité phénotypique, en particulier intrafamiliale, de la CPDX2. Un épissage tissu-spécifique du gène *EBP* pourrait être, ici, en cause.

abscract-assises_Conradi_2017-10-08.docx

P700 : DeCovA, un outil d'analyse et de visualisation de la profondeur et de la couverture de séquençage, appliqué à la recherche de CNVs.

Auteurs :

Thomas Simonet (1, 2), Pierre-Antoine Rollat-Farnier (3), Patrice Bouvagnet (4, 5), Nicolas Chatron (6, 4), Audrey Labalme (6), Gaëtan Lesca (6, 4), Damien Sanlaville (6, 4), Pascal Roy (7, 4), Claire Bardel (4, 8)

1. Centre de Biotechnologie Cellulaire, Hospices Civiles de Lyon, lyon, France
2. équipe interaction neurone-muscle, Institut NeuroMyoGène CNRS UMR5310, INSERM U1217 , Lyon, France
3. Laboratoire de Cytogénétique Constitutionnelle, Hospices Civiles de Lyon, lyon, France
4. , Université Claude Bernard Lyon1, Lyon, France
5. Laboratoire cardiogénétique - Malformations cardiaques congénitales, Hospices Civiles de Lyon, Lyon, France
6. Laboratoire de Cytogénétique Constitutionnelle, Hospices Civiles de Lyon, Lyon, France
7. Equipe Biostatistiques Santé, Laboratoire de Biométrie et Biologie Evolutive, CNRS UMR5558, Lyon, France
8. Service de Biostatistique et plateforme de séquençage NGS, Hospices Civiles de Lyon, Lyon, France

Mots clefs : NGS panel exome profondeur qualité CNV

Résumé :

Le séquençage à haut débit (NGS), du panel de quelques gènes au séquençage d'exomes, est maintenant couramment utilisé pour le diagnostic en routine. L'analyse de la profondeur et de la couverture du séquençage est capitale pour l'utilisation de ces techniques. Elle intervient lors du design d'un panel de cibles, afin de déterminer si toutes les régions d'intérêt seront effectivement bien séquencées, et lors de l'analyse de routine, afin d'identifier les régions d'intérêt insuffisamment couvertes chez un patient donné. Les outils classiques d'analyse de données NGS (Bedtools, GATK, …) fournissent soit une information générale qui ne permet pas d'identifier précisément les régions trop peu couvertes, soit une information base par base qui nécessite ensuite des traitements bioinformatiques pour être exploitée.
Afin de permettre aux cliniciens et biologistes de réaliser facilement une analyse de la couverture, nous avons développé le programme DeCovA (DEpth and COVerage Analysis). À partir d'un fichier d'intervalles ou d'une liste de gènes/transcrits, DeCovA détermine les régions exoniques à analyser et utilise BedTools ou GATK pour en obtenir la profondeur base par base, après avoir éventuellement filtré les lectures de mauvaise qualité. Il produit ensuite différentes sorties dont les principales pour le biologiste sont : (i) une visualisation schématique de chaque gène/transcrit, par échantillon, avec la profondeur et les régions insuffisamment couvertes, (ii) un schéma similaire de chaque gène/transcrit permettant d'apprécier le nombre d'échantillons atteignant au moins une profondeur de séquençage donnée, (iii) un graphe montrant la fraction de la région d'intérêt couverte à différents seuils de profondeur, (iv) un fichier au format bed BED avec la liste des intervalles dont la couverture est insuffisante et dont l'analyse doit être complétée par une autre technique.
Par ailleurs, DeCovA utilise l'analyse de la profondeur comme point de départ pour son algorithme de détection de variations du nombre de copies de l'ADN (CNVs), ce qui est tout particulièrement pertinent lorsque les régions séquencées sont disjointes et amplifiées de manière non uniforme. Pour cela, DeCovA détermine les profondeurs moyennes de chaque individu par région, les normalise pour chaque patient sur sa profondeur totale, et écarte les patients/régions trop variables ou insuffisamment couverts. DeCovA sélectionne ensuite, pour chaque intervalle, les valeurs s'écartant le plus du centre des profondeurs normées, en tenant compte de leur dispersion. Cette recherche est complétée par une visualisation par CNV, par gène ou par chromosome, qui aide le biologiste dans son interprétation.
En conclusion, DeCovA permet de réaliser une analyse de couverture et une recherche de CNVs dont les sorties graphiques sont faciles à interpréter pour le diagnostic. DeCovA est un logiciel libre, disponible sur simple demande à thomas.simonet@chu-lyon.fr.

P701 : Développement d'une application pour une lecture et une gestion facilitées des données brutes générées lors de l'analyse d'un panel CFTR par NGS

Auteurs :

laetitia gaston (1), julie tinat (1), raphaelle campait (1), benoit Arveiler (1, 2), Patricia Fergelot (1, 2), Marie-Pierre REBOUL (3)

1. Service de Génétique Médicale, CHU Bordeaux, bordeaux, France
2. Inserm, U1211, université de Bordeaux, bordeaux, France
3. Service de Génétique Médicale, CHU Bordeaux, Bordeaux, France

Mots clefs : application, séquençage de nouvelle génération, mucoviscidose

Résumé :

La lecture des données brutes générées lors de l'analyse d'un panel par séquençage de nouvelle génération nécessite l'utilisation successive de plusieurs outils bioinformatiques appropriés.
Ce présent travail est né d'un réel besoin de faciliter la lecture du NGS, de rationaliser la gestion et l'archivage de nos données et d'améliorer la traçabilité de nos analyses, dans le cadre du diagnostic moléculaire de la mucoviscidose. Aussi nous avons développé une application qui intègre dans une seule interface graphique des informations provenant de différents logiciels d'analyse.
Dans notre laboratoire, l'analyse du gène *CFTR* repose sur un panel AmpliSeq™ de Life Technologies couplée au séquenceur PGM (Ion Torrent/Life Technologies). L'analyse des données brutes se fait grâce à l'utilisation successive de trois logiciels : Torrent Suite™ v5.0.5, Ion Reporter™ v5.2 et JSI SeqPilot module SeqNext v4.3.0. L'application a été développée en python avec la bibliothèque graphique pyQt4. Il s'agissait d'y intégrer toutes les informations nécessaires provenant de ces 3 logiciels : le .tsv de Ion Reporter, le .txt de SeqNext et le .xls de la Torrent Suite, ainsi que le fichier bam du patient.
L'application peut prendre en compte dans son analyse une base de données SQL locale et évolutive de mutations et de polymorphismes caractérisés.
L'analyse réalisée par l'application permet d'extraire quatre types de données : les données d'identification du run, les variants communs aux logiciels Seqnext et Torrent Suite, les variants spécifiques à chacun des trois logiciels et la notification de l'identification comme hotspot par Ion Reporter. Pour chaque variant un commentaire sur son interprétation peut être ajouté. Les informations de couvertures minimale et maximale par base sont calculées pour chaque amplicon. Pour chaque analyse il est possible de renseigner la date de validation et le nom des techniciens et biologistes ayant assuré la vérification technique et la validation biologique. Un commentaire général peut également être rattaché au rapport d'analyse. Il est possible d'éditer un rapport détaillant la liste des séquences Sanger à faire pour confirmer les variants présents. Enfin, chaque analyse peut être sauvegardée au format pickle afin de pouvoir la rouvrir ultérieurement dans l'application. Une fonction d'export, au format pdf, de l'ensemble des données nous permet l'intégration dans notre logiciel de gestion de laboratoire.
En conclusion, l'utilisation de cette application « tout-en-un » permet de gagner du temps dans l'analyse. Elle permet en éditant une liste de travail d'optimiser l'organisation des vérifications par le séquençage Sanger. Mais aussi elle facilite l'importation des résultats dans notre logiciel de gestion de laboratoire. Elle offre la possibilité de créer une base de données de variants. Finalement elle nous aide au quotidien dans notre activité diagnostique au sein du laboratoire.

MPRRésumé Assises 2018.docx

P702 : Apport du séquençage haut débit au diagnostic moléculaire du syndrome de Marfan et des pathologies apparentées

Auteurs :

Pauline ARNAUD (1, 2), Nadine HANNA (1, 2), Marion REOCREUX (1), Kristell BECAVIN (1), Karim DIALLO (1, 3), Steven GAZAL (3, 4), Catherine BOILEAU (1, 2)

1. Département de Génétique, Hôpital Bichat, AP-HP, PARIS, France
2. INSERM U1148, Hôpital Bichat, PARIS, France
3. INSERM U1137, Hôpital Bichat, PARIS, France
4. Department of Epidemiology, Harvard University, BOSTON, Etats-Unis

Mots clefs : Syndrome de Marfan et pathologies apparentées, Diagnostic moléculaire, Séquençage haut débit NGS, Panel de capture

Résumé :

Le syndrome de Marfan (MFS) est une maladie génétique transmise selon un mode autosomique dominant, avec une prévalence d'environ 1 pour 5000 individus, caractérisé par une atteinte multisystémique, majoritairement cardiovasculaire (anévrisme de l'aorte ascendante (TAA) ou dissection aortique), oculaire et squelettique. La majorité des cas de syndrome de Marfan sont liés à des mutations dans le gène *FBN1* codant pour la fibrilline-1, protéine de la matrice extracellulaire. A ce syndrome sont associées plusieurs pathologies apparentées, qui correspondent à des atteintes incomplètes, d'un seul ou de deux systèmes par exemple. Une grande hétérogénéité génétique est observée puisque 25 gènes sont associés à ce groupe de pathologies, cette liste s'allongeant régulièrement.
Le recrutement du laboratoire de Génétique de l'Hôpital Bichat provient majoritairement du Centre de Référence Maladies Rares du syndrome de Marfan et des pathologies apparentées ainsi que des centres de compétences au niveau national. Initialement, la stratégie diagnostique reposait sur un screening séquentiel des 10 principaux gènes par séquençage Sanger. Après différents essais, la technologie retenue à ce jour est un séquençage haut débit après enrichissement par capture Nimblegen (Roche®) des 25 gènes décrits dans ces pathologies. A l'issue d'une phase rapide de mise au point, il a été possible d'obtenir une couverture à 30x de 100% des exons et jonctions introniques flanquantes pour les gènes analysés. Le séquençage est réalisé par série de 24 patients sur un séquenceur MiSeq Illumina® (adaptable sur NextSeq Illumina®). L'analyse bio-informatique est réalisée à l'aide du logiciel CLC Genomics Workbench et l'annotation des variants est complétée par un script Python.
A ce jour, 600 patients ont été analysés sur ce panel. Une mutation ou un variant de signification inconnue a été identifié chez 200 patients. De plus, il a été possible de trouver le défaut moléculaire causal dans des gènes nouvellement décrits (*LOX*, *TGFB3, MFAP5, MYLK*…) dans plusieurs anciennes familles déjà partiellement explorées en Sanger. Cette approche globale nous a également permis d'élargir le spectre de phénotypes associés à des mutations dans certains gènes. Par ailleurs, cette technologie nous a permis d'identifier plusieurs CNV pathogènes par une comparaison relative des profondeurs à un pool de témoins.
Les nouvelles technologies de séquençage haut débit nous permettent aujourd'hui d'avoir une stratégie unique dans le cas du syndrome de Marfan et des pathologies apparentées. La souplesse et la robustesse de cette technologie rend possible une adaptation des gènes analysés au fur et à mesure de l'évolution de nouvelles connaissances. La détection des CNV nous permettra probablement de mettre en évidence des remaniements dans des gènes non explorés jusqu'alors.

Arnaud - Assises Génétique - Panel NGS.docx

P703 : Qualification d'un pipeline bioinformatique d'analyse de données issues du séquençage à haut débit : expérience strasbourgeoise

Auteurs :

Eric Dahlen (1), Sinthuja Pachchek (1, 2), Vincent Zilliox (1, 2), Jamel Chelly (1), Jean Muller (1), Antony Le Béchec (2), Bénédicte Gérard (1)

1. Laboratoires de Diagnostic génétique, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
2. Laboratoire d'oncobiologie, Institut Régional du Cancer, Strasbourg, France

Mots clefs : Pipeline bioinformatique, données de séquençage, stratégie de qualification, contrôles de qualité, NF EN ISO 15 189

Résumé :

Introduction La réglementation française impose aux laboratoires de biologie médicale l'accréditation suivant la norme NF EN ISO 15 189 pour l'intégralité de leurs activités. Les analyses par séquençage à haut débit (NGS) doivent de fait faire l'objet de procédures de validation de méthode adaptées. Cette technique peut se décomposer en deux sous-processus incluant d'une part la prise en charge des échantillons biologiques, et d'autre part le traitement des données de séquençage associées par un pipeline bioinformatiques dédié. La qualification du pipeline bioinformatique est requise pour la réalisation du dossier de validation de méthode. Notre initiative s'inscrit dans la continuité du travail de l'ANPGM pour la constitution de recommandations traitant de la qualification des infrastructures logicielles nécessaires aux analyses bioinformatiques par NGS.
Méthode : La qualification a reposé sur la détection de variations de type *SNVs (single nucleotide variation)* et *indels (petite insertion/délétion)* à partir de jeux de données multicentriques mis à disposition par l'INCa. Chaque jeu de données NGS comporte des fichiers .FASTQ (données primaires) et .VCF correspondant à des variations confirmées par séquençage Sanger. Les données primaires ont ainsi été analysées par notre pipeline bioinformatique (STARK) et les variations identifiées ont été comparées à celles répertoriées par l'INCa. Parmi les jeux de données disponibles, nous en avons exploité 3 issus respectivement du CHU de Bordeaux (21 échantillons, 6 gènes : 10 *indels* et 15 *SNVs*), du CHU de Rouen (15 échantillons, 7 gènes : 12 *indels* et 8 *SNVs*) et de l'Institut Régional du Cancer de Strasbourg (28 échantillons, 2 gènes : 51 *indels,* 387 *SNVs*).
Les critères suivants ont été évalués :
1) Analyse des fichiers .FASTQ par notre pipeline bioinformatique et comparaison des variants détectés (calling du variant, statut homozygote, hétérozygote) par rapport aux fichiers .VCF mis à disposition
2) Analyse d'un jeu de données 5 fois par notre pipeline bioinformatique (répétabilité)
Le critère d'acceptation retenu dans les deux cas a été le suivant : 100% de concordance devait être obtenue pour des variants présentant une profondeur minimale de 30 lectures.
Résultats : La concordance observée a été excellente : 100% (Bordeaux), 100% (Rouen) et 98,8% (IRC). Les 5 faux négatifs concernent deux positions génomiques pour lesquelles un biais de brin (variants présent sur un seul brin) a empêché notre pipeline (et son paramétrage) de les détecter. L'analyse de la répétabilité a montré une concordance de 100%.
Discussion : L'étape de qualification du pipeline bio-informatique est cruciale pour la validation de méthode du NGS. Par la sélection et le traitement de jeux de données adéquats, nous avons posé les bases pour la mise en place de contrôles qualité internes destinés aux vérifications initiales et périodiques du pipeline afin de garantir ses performances et satisfaire aux exigences de la norme.

Qualification du pipeline bioinformatique des HUS_ed.docx

P704 : Nouvelles mutations dans MED25 et ADCK3 chez une meme patiente. Description Clinique et rapport d'une 3eme famille avec le syndrome Oeil-Cerveau.

Auteurs :

André MEGARBANE (1), Maher LAMA (2), Gretta ABOU SLEIMANE (3), Samantha STORA (4), Mikael DAVID (4), Marc OBEID (3), Valérie DELAGUE (5)

1. Recherche, INSTITUT JEROME LEJEUNE, PARIS, France
2. Pediatric Department , EL - RASSOUL HOSPITAL, Beirut, Liban
3. Department of Laboratory Science and Technology, American University for Science and Technology, Beirut, Liban
4. CRB BIOJEL, INSTITUT JEROME LEJEUNE, PARIS, France
5. Inserm, UMR_S 910, Aix Marseille Univ, GMGF, MARSEILLE, France

Mots clefs : Ataxie cerebelleuse, Dysmorphologie, Exome

Résumé :

Nous rapportons le cas d'une jeune fille d'origine libanaise issue de parents cousins du premier degré, présentant une déficience intellectuelle sévère, une luxation congénitale de la hanche, une malformation cardiaque, une petite taille, des dysmorphies faciales caractéristiques telles qu'une microcéphalie, des cheveux clairsemés et un épicanthus bilatéral, une ataxie, des convulsions et un taux élevé de lactate et de pyruvate dans le sérum. Un séquençage a haut débit de l'exome entier a été effectué chez la patiente et deux nouveaux variants homozygotes ont été retrouvés dans les gènes *MED25* (p.Gly116Val) en 19q13.33et *ADCK3* (p.Arg512Trp) en 1q42. Les mutations déjà rapportées dans ces gènes causent une ataxie spinocérébelleuse autosomique récessive SCAR9 (MIM612016) et le syndrome de Basel-Vanagait-Smirin-Yosef (MIM616449), un syndrome œil-cerveau, décrit dans deux cas familiaux. Nous discutons l'implication potentielle des deux variants dans le syndrome présenté par la patiente ou la possibilité que la patiente présente deux maladies dues à deux mutations homozygotes dans des gènes différents. De plus, en rapportant une troisième famille avec une mutation *MED25* atteinte du syndrome œil-Cerveau, nos résultats confirment l'implication de ce gène dans ce syndrome.

P705 : Endométriose familiale profonde : une pathologie monogénique rare ?

Auteurs :

Xenia Latypova (1, 2), Bertrand Isidor (3, 4), Sébastien Küry (1), Benjamin Cogné (1), Stéphane Bézieau (1), Stéphane Ploteau (5)

1. Service de Génétique Médicale, Unité de Génétique Moléculaire, CHU Nantes, Nantes, France
2. Center for Human Disease Modeling, Duke University, Durham, Etats-Unis
3. Service de Génétique Médicale, Unité de Génétique Clinique, CHU Nantes, Nantes, France
4. Laboratoire de physiopathologie de la résorption osseuse et thérapie des tumeurs osseuses primitives, INSERM, UMR-957, Nantes, France
5. Service de Gynécologie-obstétrique et médecine de la reproduction, CHU Nantes, Nantes, France

Mots clefs : Endométriose

Résumé :

L'endométriose est une cause fréquente de douleurs pelviennes et d'infertilité. L'héritabilité de l'endométriose a précédemment été démontrée. Malgrè les efforts d'identification d'allèles contribuant aux bases génétiques de l'endométriose, les facteurs en déterminant la physiopathologie restent peu caractérisés. Pas de variant à fort effet n'a pu précédemment être identifié. Nous décrivons deux familles avec une aggrégation familiale d'endométriose sévère profonde évocatrice d'une hérédité mendélienne.

Assises_endometriose.docx

P706 : Easy-HLA : logiciel en ligne d'haplotypage HLA accessible à tous délivrant un panel complet destiné aux analyses génétiques.

Auteurs :

Estelle Geffard (1), Alexandre Walencik (1, 2), Sophie Limou (1, 3), Federico Garnier (4), Anne Cesbron (2), Nicolas Vince (1), Pierre-Antoine Gourraud (1)

1. Centre de Recherche en Transplantation et Immunologie UMR 1064, INSERM, Université de Nantes, Nantes, France, Nantes, France
2. Laboratoire HLA, EFS Pays de la Loire, Nantes, France, Nantes, France
3. Département informatique et mathématiques, Ecole Centrale de Nantes, Nantes, France
4. Registre France greffe de moelle, Agence de la biomédecine, SAINT-DENIS LA PLAINE, France

Mots clefs : HLA, haplotypes, imputation, site web

Résumé :

Aim: To develop and evaluate a user-friendly web application based on published HLA haplotypes frequencies that will deliver a complete suite of HLA elements.
Background: *HLA* genes compose one of the most complex and clinically relevant genetic system. Its main characteristics are an extreme polymorphism leading to more than 16,000 described alleles and a hereditary transmission by block called haplotypes. HLA typing quickly evolved with a wide array of techniques and various resolutions (precision). So now the major limiting factor of retrospective analysis of large dataset with HLA genotypes is the difficulty in using archived typings. However, the haplotype conservation allows assumptions and computations to facilitate large scale study.
Methods: Easy-HLA is designed with a php algorithm to predict haplotypes from individual's genotypes. The input HLA genotypes can be entered with low/mid resolution, even as ambiguous results. The predicted haplotypes will then be used to resolve several HLA related features. Easy-HLA combines different modules: HLA-upgrade (statistical resolution of HLA typing ambiguity), HLA-2-haplo (Haplotype inference), HLA-expr (statistical imputation of HLA-C expression), HLA-AA (Amino Acid equivalence of HLA allele) and HLA-KIRlig (classification of KIR Ligand as C1/C2, Bw4/Bw6 and KIR2DL2 ligand).
Results: HLA-upgrade predicts a complete *HLA-A, B, C, DRB1, DQB1* genotype from a limited typing knowledge. It was validated in 2 different cohorts of 1,579 European and 917 African American samples with all 5 loci typed at 4 digits. We artificially degraded the resolution of these genotypes and discarded *HLA-C* and/or *DQB1* locus. From a generic *HLA-A, B, DR* typing, we predicted 82% of correct *HLA-A, B, C, DRB1, DQB1* high resolution genotype in the European cohort with an accuracy of 99% for *HLA-A*, 98% for *HLA-B*, 95% for *HLA-C*, 98% for *HLA-DRB1* and *HLA-DQB1*. Results obtained from the African American cohort were lower with 31% of high resolution full genotype. Even if *HLA-A, B* and *DRB1* were accurately predicted (respectively 95%, 94%, 88%), *HLA-C* and *DQB1* were more difficult to predict (80% each). The larger diversity of HLA haplotypes in African ancestry populations and the smaller sample size for this population in our database probably explain these results. HLA-2-Haplo predicts the pair of haplotypes from a given genotype and their frequencies in different populations. It was validated on 440 family-determined haplotypes. The prediction was accurate for 72% haplotype pairs, it appears that the very low frequency haplotypes are difficult to predict.
Conclusion: Easy-HLA is a package built to accurately uncover the full details of the HLA genotypes in a single or batch request and delivers data in the form of database compatible tables useful to perform further analyses. Easy-HLA is available online: http://hla.univ-nantes.fr.

P707 : AnnotCNV : Annotation des Variations du Nombre de Copies (CNV)

Auteurs :

Véronique GEOFFROY (1), Yvan HERENGER (2), Arnaud KRESS (3), Corinne STOETZEL (1), Amélie PITON (4), Hélène DOLLFUS (1, 5), Jean MULLER (4, 6)

1. Laboratoire de Génétique médicale, UMR_S INSERM U1112, IGMA, Faculté de Médecine FMTS, Université de Strasbourg, Strasbourg, France
2. Service de Génétique Médicale, CHU de Tours, Tours, France
3. ICUBE UMR 7357, Complex Systems and Translational Bioinformatics (CSTB), Université de Strasbourg - CNRS - FMTS, Strasbourg, France
4. Laboratoires de Diagnostic Génétique, IGMA, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
5. Service de Génétique Médicale, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
6. Laboratoire de Génétique médicale, UMR_S INSERM U1112, IGMA, Faculté de Médecine, Université de Strasbourg, Strasbourg, France

Mots clefs : CNV, NGS, annotations, génétique humaine

Résumé :

Le séquençage à haut débit (NGS) a révolutionné notre vision du diagnostic et de la recherche en génétique humaine en facilitant l'identification des mutations responsables des maladies génétiques, y compris les variations du nombre de copies (CNV). Depuis une dizaine d'année, plus d'une centaine d'outils de détection des CNV ont ainsi été développés avec des spécificités et sensibilités différentes donnant lieu à de nombreux faux positifs. Afin de faciliter l'analyse des CNV issus des protocoles NGS, nous présentons ici AnnotCNV un outil d'annotation des CNV.
A partir des coordonnées génomiques des CNV détectés, AnnotCNV recherche les chevauchements avec différentes sources d'annotations génomiques. Il génère ainsi pour chaque CNV 1) une annotation sur toute la longueur du CNV et 2) une annotation pour chaque gène couvert par le CNV. Pour cela, quatre types d'annotations sont réalisés :
- **Une annotation basée sur le gène** permet de lister les informations associées au(x) gène(s) impacté(s) par un CNV incluant les symboles des gènes et leurs transcrits, la position du CNV dans le gène, les chevauchements avec les CNV issus de DECIPHER, l'annotation OMIM, l'intolérance d'un gène aux variations, l'haploinsuffisance, la présence de TAD...
- **Une annotation basée sur DGV** permet à partir d'un chevauchement d'au moins 70% du CNV de répertorier la fréquence de ce CNV dans les populations disponibles.
- **Une annotation basée sur le patient** permet à partir des variations ponctuelles du patient (Single Nucleotide Variants (SNV) et indels) ou de contrôles de confirmer ou d'infirmer la détection d'un CNV. A titre d'exemple, les délétions homozygotes peuvent être confirmées en notant i) l'absence de SNV/Indel au locus prédit de la délétion dans un individu atteint et ii) la présence de SNV/Indel à ce locus dans un contrôle. Les délétions hétérozygotes peuvent être confirmées en notant i) l'absence de SNV/Indel hétérozygotes au locus prédit de la délétion dans un individu atteint, ii) la présence de SNV/Indel homozygotes à ce locus dans un individu atteint et iii) la présence de SNV/Indel hétérozygotes à ce locus dans un contrôle. Enfin, les délétions peuvent être identifiées comme des faux positifs en notant la présence de SNV/Indel hétérozygotes au locus prédit de la délétion dans un individu atteint.
- **Une annotation personnalisée** permet aux utilisateurs d'ajouter au moyen de fichiers personnalisés une annotation spécifique, comme par exemple une liste des gènes interagissant avec ceux impliqués dans une maladie ou les modes de transmission des gènes.

AnnotCNV a été évalué sur l'individu HG00096 du projet 1000 Genomes (phase 3). Au total, 4 751 CNV de 50 pb à 1,2 Mb ont été annotés en 200 secondes sur un serveur Linux x86_64 (Xeon E5-2670), démontrant ainsi la capacité d'AnnotCNV à annoter des centaines de génomes humains en une journée et à réduire ainsi les efforts nécessaires à l'identification des CNV responsables de pathologies génétiques humaines.

P708 : Ferret, un outil bioinformatique d'extraction de données génétiques populationnelles

Auteurs :

Andrew Taverner (1), Omar Belkacem (2), Eric Lam (2), Nicolas Vince (3), Pierre-Antoine Gourraud (3), Cheryl Winkler (1), Myriam Servières (2), Sophie Limou (3, 2)

1. Basic Research Laboratory, NIH/NCI, Frederick National Laboratory, Leidos Biomedical Research, Inc., Frederick MD, Etats-Unis
2. Département informatique et mathématiques, Ecole Centrale de Nantes, Nantes, France
3. Centre de Recherche en Transplantation et Immunologie UMR 1064, INSERM, Université de Nantes, Nantes, France, Nantes, France

Mots clefs : Bioinformatics, Computational tools, Genetic polymorphism, Population genetic, Genomics

Résumé :

The 1000 Genomes (1KG) Project provides a near-comprehensive resource on human genetic variation in worldwide reference populations. Up to recently, 1KG variants could only be accessed through a browser or through the raw and annotated data stored on an ftp server. In 2016, we published the first version of Ferret: a user-friendly Java tool developed to easily extract genetic variation information for a locus of interest from these large and complex data files. We now provide an upgraded version of Ferret with novel features: (1) accelerated runtime speed allowing to target larger genetic regions; (2) minimal and maximal frequency thresholds for variants to output; (3) window size around a gene to capture regulatory regions; (4) access to HLA alleles to explore the diversity of this central immunity locus; and (5) functional annotations (*e.g.* gene name, coding/non-coding, impact on protein function, etc.). Ferret offers a straightforward way, even for non-bioinformatics specialists, to manipulate, explore, and merge 1KG data with the user's dataset, as well as visualize linkage disequilibrium pattern, infer haplotypes, and design tagSNPs. Ferret is publicly available at: http://limousophie35.github.io/Ferret/.

P709 : Un nouveau cas de syndrome d'aneuploïdie en mosaïque par mutation du gène CEP57 chez un enfant précédemment diagnostiqué avec un syndrome myasthénique congénital par mutation du gène CHAT

Auteurs :

Sandra Whalen (1), Michèle Mayer (2), Damien Sternberg (3), Diana Rodriguez (4, 5), Marie France Portnoï (6), Sandra Chantot-Bastaraud (6), Pierre-Louis Léger (7), Dominique Breton (8), Giovanna Paternoster (9), Corinne Mach (10), Aurélie Lafitte (10), Claude Estrade (10), Caroline Nava (10), Boris Keren (10)

1. UF de génétique clinique, CRMR Anomalies du développement et syndromes malformatifs, APHP, Hôpital Armand Trousseau, Paris, France
2. Service de neuropédiatrie et pathologie du développement, CRMR maladies neuromusculaires, APHP, Hôpital Armand Trousseau, Paris, France
3. Unité de Génétique Cardiaque et Musculaire, Service de Biochimie, Centre de génétique moléculaire et chromosomique, APHP, Groupe hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France
4. Service de neuropédiatrie et pathologie du développement, CRMR maladies Neurogénétiques, APHP, Hôpital Armand Trousseau, Paris, France
5. GRC ConCer-LD , Sorbonne Universités, UPMC Université Paris 6, Paris, France
6. Département de génétique médicale, APHP, Hôpital Armand Trousseau, Paris, France
7. Service de réanimation néonatale et pédiatrique, APHP, Hôpital Armand Trousseau, Paris, France
8. Unité des grands enfants, Centre pédiatrique des Côtes, Les Loges en Josas, France
9. Service de neurochirurgie, APHP, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris, France
10. Centre de génétique moléculaire et chromosomique, UF de génomique du développement, APHP, Groupe hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France

Mots clefs : syndrome d'aneuploïdie en mosaïque, gène CEP57, syndrome myasthénique congénital, gène CHAT

Résumé :

Le syndrome d'aneuploïdie en mosaïque (SAM) est secondaire à une division cellulaire défectueuse et une non disjonction mitotique des chromosomes, avec formation d'un nombre élevé de cellules aneuploïdes. Les signes principaux sont un retard de croissance à début anténatal, une microcéphalie, un retard de développement, des malformations cérébrales et/ou viscérales. S'y associe une prédisposition aux cancers. Le SAM est de transmission autosomique récessive et lié à des mutations des gènes *BUB1* et *CEP57*. Seuls 5 patients sont décrits avec des anomalies du gène *CEP57*, dont aucun n'a développé de cancer à ce jour.
Nous rapportons le cas d'un garçon de 4 ans ½, premier enfant d'un couple de parents apparentés. Il nait par césarienne en urgence pour un RCF aréactif. Une absence de ventilation spontanée nécessite d'emblée une ventilation assistée dont il est toujours dépendant. Sont notés une hypotonie et hypogesticulation qui vont s'améliorer, contrastant avec une amimie, une paralysie de la succion-déglutition, une ophtalmoplégie, une paralysie diaphragmatique, des malaises à l'emporte-pièce, qui font évoquer un syndrome myasthénique congénital (SMC). Ce diagnostic est confirmé à 8 mois avec mise en évidence d'une mutation homozygote dans le gène *CHAT*.

Par ailleurs, ce patient présentait des signes non expliqués par le SMC. Il est né avec un retard de croissance intra utérin et a évolué avec un retard de croissance staturo-pondéral sur - 4 DS, et une microcéphalie progressive à - 4 DS. S'y associent un retard massif des acquisitions cognitives, des petites extrémités, une cryptorchidie, une malrotation rénale et une craniosténose complexe. Ceci conduit à réaliser un exome lequel met en évidence une mutation homozygote dans le gène *CEP57* (c.915-925dup11; p.Leu309ProfsX9).
La mutation du gène *CEP57* explique en partie les signes atypiques chez notre patient, notamment le retard de croissance staturo-pondéral, la microcéphalie, les petites extrémités. Cette même mutation est présente chez 4/5 patients décrits à ce jour, à l'état homozygote ou hétérozygote composite. Une des patientes a une craniosténose. Un retard de développement est rapporté pour 2/5 patients seulement et décrite comme légère à modérée. Dans notre cas il est difficile de conclure sur l'implication de *CEP57* dans la sévérité du retard des acquisitions.
Les 5 patients décrits ont les anomalies cytogénétiques typiques. Notre patient a eu 2 caryotypes sanguins, à la naissance et à 4 ans 1/2, sans anomalie retrouvée.
Nous présentons un nouveau cas de SAM chez un patient présentant des signes cliniques classiquement décrits, mais sans les anomalies cytogénétiques typiques.
Ce cas clinique montre l'importance de ne pas se limiter à une 1ère identification moléculaire lorsque le tableau clinique est atypique et de réaliser des explorations complémentaires à la recherche d'une 2nde anomalie, notamment pour donner un conseil génétique fiable aux parents.

P710 : L'exome en diagnostic : the good, the bad and the ugly

Auteurs :

Aurélien Trimouille (1), Vincent Michaud (1), Laetitia Gaston (2), Claudio Plaisant (1), Melanie Hellegouarch (2), Virgine Raclet (2), Perrine Pennamen (2), Sophie Naudion (2), Marine Legendre (2), Julien Van-Gils (2), Deiller Caroline (2), Audrey Meleu (2), Cécile Zordan (2), Tinat Julie (2), Goizet Cyril (2), Marie-Pierre Reboul (2), Patricia Fergelot (1), Caroline Rooryck-Thambo (1), Didier Lacombe (1), Benoit Arveiler (1), Eulalie Lasseaux (1)

1. Service de Génétique Médicale, CHU Bordeaux, Bordeaux, France
2. Service de Génétique Médicale, CHU Bordeaux , BORDEAUX, France

Mots clefs : NGS, Exome, diagnostic

Résumé :

A Bordeaux, la mise en place du séquençage d'exome en diagnostic a débutée en 2017 grâce à une externalisation partielle vers la société Integragen, et l'envoi de 40 exomes en trio. Une analyse systématisée, reproductible, et traçable est réalisée grâce au logiciel Bench Lab NGS Cartagenia.
Les gènes sont répartis en 3 catégories : l'exome « clinique » des gènes impliqués en maladie humaine (7493, issus des bases de données OMIM et HGMD), les gènes « actionnables », et tous les autres gènes constituant l'exome « recherche ». Selon le consentement, les gènes actionnables seront considérés ou masqués durant l'analyse.
Les variants de l'exome « clinique » sont triés en fonction des bases de données HGMDPro et Exac, l'effet sur la protéine, et le mode de transmission. Les outils de prédiction de pathogénicité ne sont considérés qu'à titre indicatif. Le diagnostic repose sur la triade variant délétère/gène connu en pathologie/phénotype concordant.
Après cette première année, trois types d'exome, dont voici des exemples, semblent se dégager :
« The Good » : positif à tout point de vue
L'exome peut clore une longue odyssée diagnostique. Un exome a été réalisé chez une patiente de 9 ans, suivie pour une encéphalopathie épileptique. Un variant *de novo* décrit comme pathogène a été identifiée dans le gène *EEF1A2*, expliquant la survenue du phénotype. La mère de la patiente, enceinte au moment du rendu du résultat, a demandé la réalisation d'un diagnostic prénatal pour sa grossesse en cours. Celui-ci n'a pas retrouvé la présence du variant chez le fœtus, écartant ainsi tout risque de récurrence.
« The Bad » : plus de questions que de réponses
Un exome, retrouvé négatif, a été prescrit pour un fœtus issu d'une IMG pour séquence de Pierre-Robin et dysgénésie du corps calleux. Cependant un variant faux-sens potentiellement pathogène, hérité de la mère, a été retrouvé dans *DMD.* Une nouvelle grossesse d'un fœtus de sexe masculin était alors en cours à 24 SA. Après rendu de ce résultat générateur d'une angoisse très importante pour le couple, une enquête familiale a été réalisée en urgence. Ce variant est finalement apparu comme hérité du grand-père, et considéré comme bénin. Ce cas met néanmoins en lumière l'impact négatif de la réalisation de cet exome, qui aurait pu conduire à une IMG non justifiée.
« The Ugly » : résolu par un chemin détourné…
Une patiente a été identifiée comme porteuse d'un variant *de novo* pathogène de *DYRK1A*. Son phénotype, trop sévère pour cette pathologie, a amené à une seconde lecture de l'exome, retrouvant 2 variants responsables d'un syndrome de Niemann-Pick de type C surajouté.
Un exome négatif a été rendu à un frère et une sœur présentant une déficience intellectuelle : une relecture a cependant amené à un diagnostic de syndrome de Shaaf-Yang, dû à un variant du gène soumis à empreinte *MAGEL2*. Ce variant hérité du père avait été filtré d'après les modes d'hérédité habituels.

P711 : THROMBOCYTOPENIE SYNDROMIQUE A PROPOS D'UNE NOUVELLE OBSERVATION

Auteurs :

faouzi maazoul (1), ridha mrad (1)

1. service des maladies congénitales et héréditaires, hôpital charles nicolle,Tunis,Tunisie, service des maladies congénitales et héréditaires, hôpital charles nicolle,Tunis,Tunisie, tunis, Tunisie

Mots clefs : dysmorphie faciale,anomalies des extrémités, thrombocytopenie

Résumé :

THROMBOCYTOPENIE SYNDROMIQUE A PROPOS D'UNE NOUVELLE OBSERVATION
F.MAAZOUL, H.SAFRAOUI, M.TRABELSI, I.OUERTANI, L.KRAOUA, R.MEDDEB, R.MRAD
Service des maladies congénitales et héréditaires, hôpital Charles Nicolle, Tunis, Tunisie
Les thrombocytopénies syndromiques constituent un groupe hétérogène. Le diagnostic étiologique est donc parfois difficile.
Dans ce cadre nous rapportons l'observation d'une fille issue de parents apparentés. Elle consulte à l'âge de 4 mois pour un syndrome malformatif. L'examen a objectivé une dysmorphie faciale associant de petits yeux, un ptosis modéré de la paupière gauche, un discret synophris, une arête large du nez, une columelle saillante, un philtrum court et un rétrognathisme modéré. Il existait aussi des anomalies des extrémités à type de syndactylie partielle du 4ème et 5ème doigts, une palmure des autres doigts, un pli palmaire unique transverse bilatéral et une syndactylie des 2ème, jusqu'au 5ème orteils. La croissance est dans la limite inférieure de la noramle. Le développement psychomoteur est dans les normes. L'analyse cytogénétique, le bilan osseux sont normaux. L'évolution est caractérisée par l'installation d'une thrombocytopénie à 50.000/mm3.
Cette dysmorphie faciale avec une syndactylie des extrémités et une thrombocytopénie a fait évoquer le syndrome Rupps (thrombocytopenia-carpal and cervical fusion) sauf qu'il n ya pas de fusion osseuse et de cardiopathie dans notre cas.
S'agit-il d'une même entité avec une expression clinque variable, ou d'une autre entité. L'analyse par NGS pourra éventuellement résoudre ce problème diagnostic.

P712 : Rapide-Exome en soins intensifs de néonatalologie : étude de faisabilité

Auteurs :

Guilaine BOURSIER (1), Mouna BARAT-HOUARI (1), Thomas GUIGNARD (1), Aurélie FABRE (1), Déborah MECHIN (1), Nathalie RUIZ-PALLARES (1), Laurence GAUTHEYROU (2), Odile PIDOUX (2), Maliha BADR (2), Gilles CAMBONIE (2), Patricia BLANCHET (1), Marjolaine WILLEMS (1), Isabelle TOUITOU (1), David GENEVIEVE (1)

1. Département de Génétique Médicale, Maladies Rares et Médecine Personnalisée, CHU Montpellier, Montpellier, France
2. Département de Pédiatrie, Réanimation néonatale, Unité de Soins intensifs de Néonatalogie, CHU Montpellier, Montpellier, France

Mots clefs : exome, urgence, néonatalogie, maladies rares

Résumé :

Les maladies monogéniques sont des causes fréquentes de morbidité et de mortalité néonatales mais leur diagnostic étiologique est rendu difficile par une présentation clinique souvent indifférenciée à la naissance et une hétérogénéité génétique. En l'absence d'orientation diagnostique préalable, le séquençage complet de l'exome (WES) permet d'affirmer l'étiologie de la maladie dans 30 à 50% des cas et de proposer un conseil génétique adapté. Face à la diversité et à la rapidité de la progression des pathologies en réanimation néonatale, un diagnostic rapide est indispensable pour guider la prise en charge des patients. C'est pourquoi, nous avons mis en place un circuit « court », dédié au diagnostic moléculaire des patients en situation d'urgence diagnostique dans le cadre d'un projet de recherche clinique. Or la réalisation d'un WES est complexe, et les délais habituels de rendus des résultats, de l'ordre de 18 semaines en moyenne, ne sont pas compatibles avec un contexte d'urgence.
L'objectif principal de notre étude est d'évaluer la faisabilité d'un WES en trio (un enfant et ses deux parents), rapidement, soit en moins de 16 jours. Il s'agit d'une étude sur 5 patients pédiatriques sortis de réanimation et suivis dans le service de Génétique médicale, pour lesquels une pathologie congénitale néonatale avait été suspectée mais aucun diagnostic clinique n'avait été posé. Deux méthodes commerciales d'enrichissement d'exome sont comparées : le kit Exome Clinical Research V2 SureSelect (Agilent technologies) et le kit TruSeq® Rapid Exome Kit (Illumina). Le séquençage est réalisé sur un Nextseq 500 (Illumina). Puis les séquences sont alignées sur le génome de référence GRCh37/hg19 et analysées par deux pipelines bio-informatiques. Les résultats du WES sont ensuite analysés en réunion pluridisciplinaire par une équipe bioinfo-clinico-biologique.
A partir du prélèvement sanguin des patients, l'extraction et la préparation des ADN ont été réalisées en 1 jour ouvré, suivies de 3 jours de préparation de librairie et 18h de séquençage. Les analyses bio-informatiques primaires, secondaires et tertiaires ont été effectuées en 4 jours, puis 3 jours supplémentaires ont permis à l'équipe de se réunir afin d'interpréter les résultats. Le facteur limitant de ce processus était la disponibilité des personnes et du matériel, soulignant la nécessité de mettre en place une organisation dédiée au contexte d'urgence.
A l'issue de cette étude préalable, nous avons montré la faisabilité technique de la réalisation d'un WES en 16 jours que nous avons nommé « Rapide-Exome ». Nous débuterons l'utilisation du « Rapide-Exome » en première intention dans le contexte d'urgence des Soins intensifs de Néonatalogie et prévoyons d'étendre cette stratégie aux couples avec une grossesse en cours et un enfant avec une maladie éligible au diagnostic prénatal.

RapideExome_faisabilite_20171009.docx

P713 : Epidémiologie et diagnostic des anomalies des membres de 1995 à 2014 – Données du Registre des Malformations Congénitales de Paris.

Auteurs :

Alexandra Maslin Lecourbe (1), Nathalie Lelong (2), Babak Khoshnood (1), Laurence Loeuillet (3)

1. Inserm UMR1153, Equipe de recherche en Epidémiologie Obstétricale, Périnatale et Pédiatrique (EPOPé), Université Paris Descartes, paris, France
2. Inserm UMR1153, Equipe de recherche en Epidémiologie Obstétricale, Périnatale et Pédiatrique (EPOPé), Université Paris Descartes, Paris, France
3. Service d'Anatomie Pathologique, GHU Paris Centre, Hôpital Cochin, Paris, France

Mots clefs : Anomalies congénitales des membres, diagnostic anténatal, examen fœtopathologique.

Résumé :

Le Registre des Malformations Congénitales de Paris enregistre depuis 1981 tous les cas de malformations, isolées ou non, parmi la population des femmes accouchant à Paris et domiciliées à Paris ou en Petite Couronne. Toutes les issues de grossesse sont inclues: enfants nés vivants, interruptions médicales de grossesse et morts fœtales in utero supérieures à 22 semaines d'aménorrhée. Les malformations congénitales sont codées à partir de la Classification Internationale de Maladies édition 9 et 10. Les syndromes sont identifiés à partir de leur code OMIM.
Nous présentons une analyse épidémiologique des anomalies des membres, sur une période de 20 années, couvrant plus de 850 000 naissances, en suivant leur évolution au cours de deux périodes, 1995-2004 et 2005-2014. Avec 2141 cas enregistrés, la prévalence globale des anomalies des membres est de 25,1 pour 10 000 naissances. Les polydactylies sont les malformations les plus fréquentes (13,2 cas pour 10 000 naissances) devant les anomalies réductionnelles des membres (7,1/10 000) et les syndactylies (4,5/10 000). Le membre inférieur est beaucoup moins souvent atteint que le membre supérieur (2,7% contre 5,2%).
68% des grossesses ont donné naissance à des enfants vivants, 2% se sont terminées par un décès fœtal et 30% des couples ont eu recours à une interruption médicale de la grossesse. Ces issues de grossesse sont quasiment identiques entre les deux périodes.
La majorité des anomalies des membres sont isolées (56%). Elles sont associées dans 25% des cas à des malformations d'autres systèmes, principalement urinaire, neurologique et cardiaque, et dans 10% des cas à des anomalies chromosomiques (trisomies 13, 18 et polyploïdies). Sur les 2141 cas, 194 présentaient un syndrome étiqueté: syndrome de Meckel (n=40) syndrome d'Apert (n=19), association VACTERL (n=18). Le nombre de syndromes diagnostiqués a faiblement augmenté entre les deux périodes étudiées, passant de 83 à 111 cas.
Environ 30% des anomalies des membres sont diagnostiquées en anténatal. La plupart des anomalies sont vues au second trimestre (environ 20% des cas). L'échographie du troisième trimestre n'est pas propice au dépistage des anomalies des membres, puisque seules 2,5% d'entre elles sont découvertes à cette occasion. En comparant les deux périodes de l'étude, on remarque que le dépistage échographique au premier trimestre a quasiment doublé.
Pour les 730 décès enregistrés, l'examen autopsique a été réalisé dans 76 % des cas. Bien qu'il soit de moins en moins réalisé (taux de 85% au cours de la première période et 66% lors de la seconde), il reste déterminant dans le diagnostic des anomalies des membres et des malformations associées. Parmi les 194 syndromes répertoriés, 59 sont diagnostiqués à l'issue de l'examen autopsique.

Abstract Epidémiologie et diagnostic des anomalies des membres de 1995 à 2014.doc

P714 : Analyse comparative de 4 kits de capture d'exomes dans le cadre de diagnostics de maladies héréditaires

Auteurs :

Mohamed Taoudi (1), Jérémy Barbier (1), Laure Raymond (2), Francis Rousseau (1), Jean-François Taly (1)

1. Unité de séquençage, Eurofins-Biomnis, Lyon, France
2. Unité de génétique, Eurofins-Biomnis, Lyon, France

Mots clefs : Diagnotic génétique, NGS, exomes, bioinformatique

Résumé :

Contexte : Dans le cadre de la détection des variations génétiques responsables de maladies rares, il est courant d'effectuer un séquençage des gènes d'un patient par méthodes dites de nouvelle génération. Parmi les différentes méthodes de séquençage, nous nous intéressons ici au séquençage d'exomes, une méthode ciblée à large spectre qui permet de déterminer la séquence des régions codantes du génome d'un individu. La principale raison d'un échec de détection d'un variant est un manque de couverture de la séquence des exons. Parmi les nombreuses étapes qui constituent le protocole d'analyse d'exomes, la capture des exons est l'étape ayant l'influence la plus notable sur les caractéristiques de profondeur et couverture des exons. Plusieurs fournisseurs proposent des kits présentant chacun des caractéristiques différentes en fonction de la stratégie de capture et la finalité du séquençage. Ainsi, le choix du kit de capture est essentiel car il doit d'une part optimiser la qualité des données afin de permettre une interprétation pertinente et d'autre part maximiser le nombre de patients à traiter en parallèle pour réduire les délais de rendu et le coût de séquençage. Ces kits sont régulièrement évalués dans des publications scientifiques mais ils évoluent rapidement et ne répondent pas spécifiquement à certaines indications précises, comme le diagnostic génétique du retard mental. L'objet de cette étude est donc de tester dans le contexte d'un Laboratoire de Biologie Médicale (LBM) les performances de plusieurs méthodes commerciales de capture des exons d'un patient.
Méthode : Nous avons testé sur le trio de référence du National Institute of Science and Technology (trio ashkénaze) et selon la procédure de séquençage standard du laboratoire (fragmentation mécanique et séquençage Illumina sur Hiseq2500) le kit de capture d'exomes clinique de 4 fournisseurs (Roche, Agilent, Sophia-Genetics et Illumina). Nous avons ainsi généré les variants selon les outils et les recommandations du GATK (Genome Analysis Tool kit) et ensuite mesuré la sensibilité et la spécificité de chaque méthode de capture en comparant les résultats obtenus aux variants de confiance fournis par le consortium Genome in a Bottle (GiaB). Afin de comparer les kits malgré les différences de design des sondes de captures, nous avons restreint les analyses bioinformatiques aux positions contenues dans deux cibles, l'une correspondant aux exons de RefSeq et l'autre aux 749 gènes du panel « déficiences intellectuelles » de l'université RadBoud.
Conclusion : Nous avons fondé nos analyses comparatives sur une série de métriques traduisant la qualité des données. Les kits ont ainsi été comparés sur leur résolution (sensibilité et spécificité vs GiaB, %bases > 10X) et leur rendement (%inTarget, uniformité de couverture et %duplicats). Ces résultats nous ont permis de mettre les avantages et les inconvénients de chaque kit en perspective d'une production massive de données au sein d'un LBM.

AssiseNantes-2018-final.docx

P715 : Une approche basée sur l'utilisation des cellules hiPS et de l'enChIP pour l'identification de nouveaux régulateurs transcriptionnels de PCSK9.

Auteurs :

Pierre-Alexandre Cantat (1), Amandine Caillaud (1), Kévin Ly (2), Hugo Gagnon (2), Méryl Roudaut (1), Toshitsugu Fujita (3), Hodaka Fuji (3), Robert Day (4), Bertrand Cariou (1), Karim Si-Tayeb (1)

1. , l'institut du thorax, INSERM, CHU Nantes, Nantes, France, Nantes, France
2. , PhenoSwitch, Sherbrooke, Canada
3. , Research Institute for Microbial Diseases, Osaka University, Osaka, Japon
4. , Sherbrooke Institut of Pharmacology, Sherbrooke, Canada

Mots clefs : PCSK9; cellules souches pluripotentes induites humaines; facteurs de transcriptions; CRISPR; enChIP

Résumé :

La proprotéine convertase subtilisin/kexin de type 9 (PCSK9) est décrite comme un acteur majeur de la régulation du métabolisme du cholestérol par les hépatocytes.
Pour pousser plus loin la caractérisation des fonctions de PCSK9, notre équipe a entrepris d'utiliser la capacité des cellules souches pluripotentes induites humaines (hiPS) à se différencier efficacement en hépatocytes. Ce model, en plus de permettre l'étude de mutations naturelles de PCSK9 sur la régulation du métabolisme du cholestérol, nous permet également de caractériser le rôle de PCSK9 au cours de la différenciation hépatique. C'est ainsi que nous avons pu mettre en évidence que PCSK9 était fortement exprimée dans les cellules hiPS et que son expression était activement régulée au cours de la différenciation.
Dans ce contexte, nous avons mis en place un projet visant à identifier de nouveaux régulateurs transcriptionnels de *PCSK9*. En effet, les deux facteurs de transcription, SREBP2 et HNF1a, caractérisés comme les principaux régulateurs de l'expression de *PCSK9* dans les hépatocytes ne sont pas exprimés dans les cellules hiPS où pendant leur différenciation précoces.
Une analyse *in silico* du promoteur de PCSK9 ainsi que de sa séquence codante nous a permis d'identifier une multitude de sites de liaisons potentiels rendant difficile la caractérisation individuel des différents facteurs de transcriptions correspondant. Ainsi, nous avons privilégié une stratégie globales visant à identifier de nouveaux régulateurs de l'expression de PCSK9 dans les cellules hiPS, la techniques de l'enChIP (engineered DNA-binding molecule-mediated chromatin immunoprecipitation). Ce procédé nous permet de cibler une région génomique d'intérêt à l'aide de l'endonucléase Cas9 privée de son activité endonucléasique (dCas9) et fusionnée à une étiquette 3xFLAG, ainsi que de l'ARN guide (gRNA) approprié. Une fois immunoprécipitée, les protéines fixées sur la région génomique d'intérêt pourront être identifiées par spectrométrie de masse. Nous avons entrepris une collaboration avec l'équipe du Dr Hodaka Fuji à l'université d'Osaka, Japon, afin d'utiliser la protéine recombinante r-dCas9-3xFLAG. Cette dernière nous a permis de mettre en place l'enChIP *in vitro* en utilisant un complexe rdCas9-3xFLAG/gRNA/ac anti-FLAG couplé à des billes magnétiques. Ce complexe peut alors interagir avec la chromatine de cellules hiPS fixée et soniquée pour réaliser l'immunoprécipitation de la région promotrice de *PCSK9*.
Nous avons identifié 15 régions d'intérêts pour lesquels nous avons réalisé le design des gRNAs des amorces PCR. Notre avons focalisé notre approche sur une région en particulier du promoteur de PCSK9 pour laquelle nous avons pu réaliser plusieurs enChIP avec succès. Les produits de ces enChIP ont été analysés par spectrométrie de masse par l'entreprise PhenoSwitch basée à Sherbrooke, Canada et les résultats seront discutés lors de la 9ème éditions des Assises de Génétique Humaine et Médicale.

P716 : Prévalence de mutations du gène Maged2 dans le syndrome de Bartter anténatal

Auteurs :

Anne Legrand (1), Isabelle Roncelin (1), Sophie Dreux (2), Bertholet-Thomas Aurélia (3), Françoise Broux (4), Daniele Bruno (5), Stéphane Decramer (6), Georges Deschenes (7), Djamal Djeddi (8), Vincent Guigonis (9), Nadine Jay (10), Tackwa Khalifeh (11), Brigitte Llanas (12), Denis Morin (13), Gilles Morin (14), François Nobili (15), Christine Pietrement (16), Amélie Ryckewaert (17), Isabelle Vrillon (18), Anne Blanchard (19), Rosa Vargas-Poussou (1)

1. Génétique, AP-HP Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris, France
2. Biochimie Prénatale, Hôpital Robert Debré, Paris, France
3. Service de Néphrologie pédiatrique, Hôpital Femme Mère Enfant, Bron, France
4. Département de Pédiatrie Médicale, Hôpital Charles Nicolle - CHU de Rouen, Rouen, France
5. Service de Néphrologie pédiatrique, CHU de Marseille - Hôpital de la Timone, Marseille, France
6. Service de Néphrologie pédiatrique, Hôpital des EnfHôpital des Enfants, Toulouse ants, Toulouse , To, France
7. Service de Néphrologie pédiatrique, Hôpital Robert Debré, Paris, France
8. Service de Pédiatrie Médicale, CHU Amiens - Picardie, Amiens, France
9. Département de Pédiatrie, CHU de Limoges, Limoges, France
10. Service de Pédiatrie et Génétique , CHU Morvan, Brest, France
11. Service médico-chirurgical de pédiatrie , CHU de Poitiers , Poitiers, France
12. Service de Néphrologie pédiatrique, Hôpital Pellegrin-Enfants CHU de Bordeaux, Bordeaux, France
13. Service de Néphrologie pédiatrique, CHU de Montpellier, Montpellier, France
14. Service de Génétique, CHU Amiens - Picardie, Amiens, France
15. Département de Pédiatrie, CHU de Besançon, Besançon, France
16. Service de Néphrologie pédiatrique, CHU de Reims, Reims, France
17. Service de Néphrologie pédiatrique, CHU de Rennes, Rennes, France
18. Service de Néphrologie pédiatrique, CHRU de Nancy Brabois Enfants, Nancy, France
19. Centre d'Investigations Cliniques, AP-HP Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris, France

Mots clefs : Bartter anténatal, hydramnios, tubulopathie rénale

Résumé :

Le gène *MAGED2* a été récemment identifié comme responsable d'une forme transitoire de Bartter anténatal et d'un hydramnios idiopathique liés à l'X. Ce gène encode pour une protéine chaperonne qui peut affecter l'expression des transporteurs de NaCl dans le tubule rénal. Dans la cohorte française de Bartter anténatal (n=171), 75% des cas correspondent aux formes connues de Bartter de type 1 à 4. Parmi les cases négatives (n=42), l'évolution clinique chez 12 patients correspondait à une forme transitoire. Le gène *MAGED2* a été séquencé par Sanger dans l'ensemble des cas négatifs. Les données cliniques et biologiques pré et postnatales ont été collectés rétrospectivement et les données au diagnostic comparés avec les Bartter anténataux de types 1 à 4.
Des mutations de *MAGED2* ont été détectées chez 17 patientes appartenant à 16 familles, incluant les 12 cas avec tableau transitoire. Quinze mutations différentes dont 13 non décrites précédemment ont été détectées (une grande délétion, 3 petites délétions ou insertions avec décalage du cadre de lecture, 3 touchant des sites d'épissage, 3 non-sens 2 délétions sans décalage du cadre de lecture et 3 faux-sens). Deux des cas index étaient de sexe féminin et avaient un tableau aussi sévère que les sujets du sexe masculin; chez une d'elles un biais d'inactivation de l'X a été montré. Un hydramnios sévère a été diagnostiqué dans toutes les grossesses entre 18 et 27 semaines d'aménorrhée (SA). Une grossesse a été interrompue; seize enfants sont nés prématurés (26-33 SA) et ont présenté un tableau néonatal de tubulopathie (polyurie, perte de sel et alcalose métabolique avec hyperaldostéronisme secondaire). Deux patients ont décédé dans les 2 premières années de la vie et le caractère transitoire de la tubulopathie a été confirmé dans les cas restants (disparition des anomalies cliniques et biologiques permettant l'arrêt du traitement entre 2 et 18 mois). En période néonatale, il est difficile de distinguer les différents types de Bartter entre eux, en particulier le type 1 et la forme transitoire. Dans cette cohorte seulement 2 paramètres le permettent: la taille à la naissance et la chlorémie: les patients avec mutations *MAGED2* ont une macrosomie harmonieuse et une chlorémie normale. Huit patients présentent des manifestations extrarénales touchant plusieurs organes.
En conclusion, le Bartter transitoire avec mutations de *MAGED2* représente 9% des cas de la cohorte de Bartter anténatal. Leur présentation périnatale est variable et parfois il est difficile de les différentier cliniquement des autres types de Bartter, en particulier du type 1; en conséquence, ce gène doit faire part du panel diagnostic du syndrome de Bartter anténatal. La présence de manifestations extrarénales est en faveur d'un rôle de la protéine MAGE-D2 dans d'autres tissus.

Maged2 AG 2018.docx

P717 : Nouvelle Mutation du gène WDR62, identifiée par séquençage haut débit, chez une famille marocaine avec microcéphalie primaire autosomique récessive

Auteurs :

Imane Cherkaoui Jaouad (1), Wafaa Jdioui (2), Abdelali Zrhidri (3), Jaber Lyahyai (4), Laure Raymond (5), Grégory Egea (5), Said elmouatassim (5), Abdelaziz Sefiani (6)

1. Département d Génétique Médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Maroc
2. Département de génétique médicale, Institut national d'hygiène, Rabat, Rabat, Maroc
3. Centre de génomique humaine, Faculté de médecine et de pharmacie de Rabat, université Mohamed V, Rabat, Rabat, Maroc
4. Centre de Génomique Humaine, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université Mohammed V, Rabat, Rabat, Maroc
5. Département de Génétique Moléculaire, Laboratoire Biomnis, Lyon, France, Lyon, France
6. Département de Génétique Médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Rabat, Maroc

Mots clefs : Microcéphalie primaire autosomique récessive, séquençage de nouvelle génération, WDR62

Résumé :

Introduction: Autosomal recessive primary microcephaly (MCPH) is a rare genetically heterogeneous disorder of neurogenic brain development characterized by reduced head circumference at birth with no gross anomalies of brain architecture and variable degrees of intellectual impairment. Clinical and genetic heterogeneity in monogenetic disorders represents a major diagnostic challenge.
Here, we used the whole-exome sequencing as a diagnostic approach for establishing a molecular diagnosis in a family with two children with MCPH.
Materials and Methods: Two patients, 11 and 9 years old, born from consanguinous parents, were refered to the department of medical genetics. The diagnosis of MCPH was made, based on reduced head circumference without brain architecture abnormalities. Whole-exome sequencing was performed in these patients, their parents and their two healthy sibling.
Results: A homozygous mutation c.1027C>T; p.Gln343Ter in exon 8 of *WDR62*, a gene already known to be related to MCPH, was identified. Sanger sequencing confirmed this mutation in the affected children. This mutation was not found in HGMD and 1,000 Genome database.
Conclusions: Our data expanded the spectrum of mutations in *WDR62* gene, and give more arguments of the powerful and cost- effective tool of whole exome sequencing for the molecular diagnosis of genetically heterogeneous disorders such MCPH. Exome sequencing allows us to have faster molecular results especially when specific diagnosis needs a longer time to sequence many genes.

Résumé MCPH.Maroc.doc

P718 : Apport de l'exome en médecine foetale : étude de 17 exomes avec phénotype fœtal sévère.

Auteurs :

Wallid Deb (1), Benjamin Cogne (1), Madeleine Joubert (2), Marie Denis Musquer (2), Thomas Besnard (1), Claudine Le Vaillant (3, 4), Marie Vincent (1), Mathilde Nizon (1), Mathilde Pacault (1), Anne-Sophie Riteau (3), Marie-Pierre Quere (5, 4), Marie-Line Bichon (1), Laura Guyon (1), Sébastien Schmitt (1), Bertrand Isidor (1), Norbert Winer (3, 4), Stéphane Bézieau (1), Claire Beneteau (1, 4)

1. Service de Génétique Médicale, CHU de Nantes, Nantes, France
2. Service D'anatomopathologie et Fœtopathologie, CHU de Nantes, Nantes, France
3. Service de Gynécologie-Obstétrique, CHU de Nantes, Nantes, France
4. Centre Pluridisciplinaire de Diagnostic Prénatal, CHU de Nantes, Nantes, France
5. Service de Radiologie, Hôpital Mère-Enfant, CHU de Nantes, Nantes, France

Mots clefs : Exome, Médecine Fœtale, CACHD1, CNTNAP1, COQ2, CREBBP, NOTCH2, PIEZO1

Résumé :

Introduction
Les anomalies échographiques concernent 3-5% des grossesses, dont 90% chez des femmes sans facteur de risque préexistant. La stratégie diagnostique actuelle, reposant sur le caryotype, l'ACPA (Analyse Chromosomique par Puce à ADN) et d'éventuelles analyses génétiques moléculaires ciblées, ne permet de poser un diagnostic que dans 30-40% des cas (Chitty et al, 2016). L'orientation diagnostique est difficile du fait de la variabilité phénotypique et l'absence de forme prénatale décrite. Les études d'exome réalisées chez des fœtus présentant un syndrome polymalformatif ont montré une rentabilité diagnostique d'environ 25% (Fu et al. 2017).
Matériel et Méthodes
Nous avons réalisé 17 exomes en solo : 15 chez des fœtus polymalformatifs, et 2 nouveau-nés décédés en période néonatale. Les exomes ont été réalisés et interprétés selon les règles de bonne pratique GATK du Broad Institute (version 3.4) avec un pipeline local. L'analyse complémentaire des CNVs a été réalisée à l'aide de l'outil CANOES.
Résultats
Un diagnostic moléculaire certain a pu être posé chez 6 patients avec des variants pathogènes identifiés dans des gènes à transmission autosomique récessive (*PIEZO1, CNTNAP1, COQ2*) et autosomique dominante *de novo* (*CREBBP et NOTCH2*) ainsi qu'un CNV causal (délétion 2p14-p15 de 3.45Mb). Ces syndromes génétiques n'avaient pas été évoqués. Les signes anténataux du syndrome de Hajdu-Cheney (*NOTCH2)* n'avait pas été encore rapportés. Les autres syndromes fœtaux retrouvés sont d'expression très variable et donc d'évocation difficile en période prénatale : Rubinstein-Taybi (*CREBBP*, Cardalliac et al. 2017), neuropathie hypomyélinisante-arthrogrypose (*CNTNAP1*, Nizon et al. 2017), lymphœdème héréditaire autosomique récessif (*PIEZO1).* Chez l'un des fœtus, deux mutations non-sens à l'état hétérozygote composite ont été mise en évidence dans un gène candidat *CACHD1*. Des modèles murin et zebrafish sont à l'étude.
Discussion
Nous rapportons donc une série de 17 exomes sur 15 fœtus et deux nouveau-nés avec phénotype sévère, avec un rendement diagnostique de 35%. Les exomes en solo sont parfois d'interprétation difficile du fait de phénotypes souvent incomplets et/ou non typiques en anténatal et l'absence de signes neurologiques identifiable comme la déficience intellectuelle. Deux de ces cas ont été résolus grâce à l'analyse des CNVs sur exome, ce qui montre la pertinence de cette analyse. L'apport d'un conseil génétique à ces familles a conduit à la réalisation de trois DPN (CNTNAP1, PIEZO1, CREBBP). Le développement du séquençage de l'exome en fœtopathologie représente donc un intérêt majeur pour la prise en charge personnalisée des couples (conseil génétique, DPN, DPI), la connaissance des signes fœtaux de maladies génétiques connues et la découverte de nouveaux gènes impliqués dans le développement.

P719 : Nouvelle approche de caractérisation des variants d'épissage : application à BRCA1

Auteurs :

Virginie Caux-Moncoutier (1), Khadija Abidallah (1), Elodie Girard (2, 3), Choumouss Kamoun (2, 3), Philippe Lafitte (1), Najah Mighri (4), Elsa Bernard (2, 3), Jean-Philippe Vert (2, 3), Claude Houdayer (5, 6)

1. Génétique, Institut Curie, Paris, France
2. INSERM U900, Institut Curie, Paris, France
3. Centre for Computational Biology, Mines ParisTech, PSL-Research University, Paris, France
4. Laboratoire de génomique et oncogénétique, Institut Pasteur, Tunis, Tunisie
5. Génétique et INSERM U830, Institut Curie, Paris, France
6. Génétique, Université Paris Descartes, Paris, France

Mots clefs : variants, épissage, BRCA1, séquençage haut débit, prédictions bioinformatiques, FlipFlop

Résumé :

Les laboratoires de diagnostic génétique sont aujourd'hui équipés de séquenceurs haut débit dont la capacité a permis l'identification de nombreux variants, pathogènes ou de signification inconnue. L'enjeu majeur pour le généticien est de déterminer la causalité des variants séquencés. Parmi eux, les variants d'épissage sont certainement ceux dont l'interprétation est la plus délicate car les effets peuvent être partiels, aboutir à plusieurs transcrits anormaux, et l'ensemble doit être interprété à la lumière des épissages alternatifs du gène en cause. Une meilleure évaluation de leur impact est donc nécessaire pour préciser leur pathogénicité.
Afin d'offrir un outil diagnostique simple et robuste, nous avons développé une stratégie de séquençage haut débit ciblée sur l'ADN complémentaire du gène d'intérêt, avec reconstruction et quantification précise des différents transcrits présents.

Dix-neuf prélèvements de patientes porteuses de mutations d'épissage de *BRCA1* déjà caractérisées par Sanger et 5 témoins normaux ont été inclus. Les ARN ont été extraits de lignées lymphoblastoïdes et *BRCA1* enrichi par RT PCR en 3 amplicons chevauchants, avec des amorces sur des exons constitutifs (5'UTR à exon 7, exons 6 à 12, exon 11 à 3'UTR selon RefGene). Deux types de préparation de banques ont été employés, l'un pour séquençage Ion Torrent (Ion Xpress Plus Fragment Library et PGM), l'autre pour séquençage Illumina (Nextera XT et MiSeq) avec utilisation de 96 index. En effet, pour chaque échantillon un index différent a été ajouté sur l'amplicon central afin de distinguer les zones chevauchantes à l'analyse informatique.
Après avoir été alignées avec TopHat2, les données ont été normalisées entre amplicons et par rapport aux contrôles afin de reconstruire et prédire les différents transcrits présents sur l'ensemble du gène à l'aide de l'algorithme FlipFlop (*Fast Lasso-based Isoform Prediction as a FLOw Problem*, E.Bernard *et al*, Bioinformatics 2014).

Le paysage transcriptionnel de *BRCA1* a été caractérisé pour l'ensemble des patientes avec des données Ion Torrent et Illumina concordantes. Les épissages alternatifs connus ont bien été identifiés. Dix-huit des 19 variations d'épissage précédemment identifiées en Sanger ont bien été retrouvées par notre nouvelle approche. De façon étonnante, une rétention intronique identifiée en Sanger n'a pas été vue. Afin de vérifier la cohérence des résultats, les données quantitatives prédites par FlipFlop vont maintenant être comparées aux ratios d'appel des différents variants identifiés sur les transcrits.

Nous proposons ici une nouvelle approche de caractérisation précise des anomalies d'épissage, adaptée à des conditions expérimentales différentes et transposable à tout gène d'intérêt, le *pipeline* bioinformatique étant disponible et s'accompagnant d'une visualisation conviviale des résultats.

P720 : Deux nouvelles mutations du gène PTCH1 chez des patients marocains atteints du syndrome de Gorlin

Auteurs :

Imane Cherkaoui Jaouad (1), Wafaa Jdioui (2), Nicolas Sevenet (3), Françoise Bonnet (3), Bernadette Gastaldello (3), Delfine Lafon (3), Michel Longy (3), Abdelaziz Sefiani (4)

1. Département d Génétique Médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Maroc
2. Département de génétique médicale, Institut national d'hygiène, Rabat, Rabat, Maroc
3. Laboratoire de génétique moléculaire , Institut Bergonié, Bordeaux, France, Bordeaux, France
4. Département de Génétique Médicale, Institut National d'Hygiène, Rabat, Rabat, Maroc

Mots clefs : Naevomatose basocellulaire – PTCH1 - Syndrome de Gorlin

Résumé :

Introduction: Le syndrome de Gorlin, aussi connu sous le nom de naevomatose basocellulaire, est une maladie héréditaire rare, à transmission autosomique dominante, à pénétrance complète et à expressivité variable. Ce syndrome est caractérisé par un spectre d'anomalies de développement et une prédisposition à différents cancers. Le syndrome est dû à des mutations du gène *PTCH.* Le diagnostic se base sur des critères spécifiques et il est confirmé par analyse moléculaire du gène *PTCH*.
Matériel et méthodes: Nous rapportons l'observation de deux jeunes patients marocains adressés pour suspiscion du syndrome de Gorlin sur la base de critères cliniques spécifiques.
Résultats: Nous avons fortement suspecté le diagnostic du syndrome de Gorlin devant l'association de neavomatose basocellulaire, macrocéphalie et kystes odontogènes.
Une analyse moléculaire du gène *PTCH1* par des techniques de séquençage de nouvelle génération, avec confirmation des variants par méthode de Sanger, a permis d'identifier deux nouvelles mutations (la mutation c.2298dupT de l'exon 15 du gène *PTCH1* à l'état hétérozygote, et la mutation c.584G>C; p.Gln196*(r.) au niveau de l'exon 3 du gène *PTCH1* à l'état hétérozygote, avec détection d'un transcrit anormal du gène *PTCH1* présentant une insertion des 37 premiers nucléotides de l'intron 3).
Discussion: Ces deux nouvelles mutations sont considérées comme délétères et significatives du syndrome de Gorlin. La caractérisation de ces mutations permettra d'instaurer un suivi régulier chez les patients et aussi de rechercher l'anomalie chez les apparentés symptomatiques. A travers ces observations, nous montrons l'intérêt de l'analyse moléculaire pour confirmer le diagnostic et prodiguer un conseil génétique adéquat.

Poster Gorlin Assises.doc

P721 : Quand un pseudogène cache un gène : STRC et OTOA ; implications dans les surdités isolées de l'enfant

Auteurs :

Laurence Jonard (1), Roselyne Gesny (1), Crystel Bonnet (2), Jean-Paul Bonnefont (1), Souad Gherbi (3), Natalie Loundon (4), Alban Ziegler (3), Sandrine Marlin (3)

1. Laboratoire de génétique moléculaire, Hôpital Necker, Paris, France
2. UMRS 1120, Institut de la Vision, Paris, France
3. Centre de référence surdités génétiques, Hôpital Necker, Paris, France
4. ORL, Hôpital Necker, Paris, France

Mots clefs : Surdité, pseudogène, stereociline, MLPA

Résumé :

Les gènes *STRC* et *OTOA* codent respectivement la stéréociline et l'otoancorine. Ces protéines sont spécifiquement exprimées au niveau de l'oreille interne. Tandis que la stéréociline, protéine extracellulaire, joue un rôle de structure dans les stéréocils des cellules ciliées de l'oreille interne, l'otoancorine est une glycoprotéine non collagène des gels acellulaires de l'oreille interne. La stéréociline est importante pour le maintien de la cohésion de la touffe ciliaire. Des mutations de ces deux gènes sont responsables de surdité isolée autosomique récessive, respectivement DFNB16 et DFNB22.
Chacun de ces deux gènes possède un pseudogène à l'origine de nombreux remaniements chromosomiques pouvant entraîner des anomalies de dosage du gène (Copy Number Variation, CNVs). Ainsi, il n'est pas rare d'observer des sujets sourds qui portent une large délétion dans l'un de ces deux gènes, associée à une mutation ponctuelle en *trans*. Cependant, la présence du pseudogène complique considérablement la caractérisation de ces délétions.
Afin de mettre en évidence ces CNVs, MRC-Holland a développé le kit MLPA P461-A1 permettant de rechercher facilement des réarrangements spécifiques dans ces deux gènes. Cet outil permet de détecter des réarrangements ou de confirmer ceux observés en séquençage moyen-débit ou en CGH-Array.
Nous avons recherché la présence de réarrangements (délétion / duplication) de ces deux gènes dans une cohorte de 400 patients atteints de surdité isolée précoce par PCR spécifique et/ou par MLPA.
Une délétion homozygote de la totalité du gène *STRC* a été identifiée chez environ 15% des patients, ce qui est à prendre en compte dans la stratégie d'analyse. A l'inverse, nous n'avons identifié aucune délétion homozygote de *OTOA*. Les autres patients (avec ou sans délétion hétérozygote) ont fait l'objet d'une analyse complémentaire par séquençage haut débit à l'aide d'un kit TruSEq Custom Amplicon (Illumina) sur MiSeq.
Les réarrangements du gène *STRC* sont fréquemment impliqués dans des cas de surdité isolée de l'enfant et doivent être spécifiquement recherchés par une technique adaptée.

P722 : Rôle de l'haploinsuffisance d'USP34 dans le syndrome microdélétionnel 2p15p16.1

Auteurs :

Lyse RUAUD (1), Paul KUENTZ (2), François LECOQUIERRE (3), Virginie ROZE (4), Brigitte GILBERT-DUSSARDIER (5), Kristiina AVELA (6), Christina FAGERBERG (7), Mylène VALDUGA (8), Lionel VAN MALDERGEM (1), Juliette PIARD (1)

1. Centre de Génétique Humaine, CHRU, Université de Franche-Comté, Besançon, France
2. Laboratoire de Génétique Biologique, CHRU, Université de Franche-Comté, Besançon, France
3. Laboratoire de Biologie Moléculaire, CHU, Faculté de médecine et de pharmacie de Rouen, Rouen, France
4. Laboratoire de Génétique Biologique, CHRU Besançon, Besançon, France
5. Génétique Médicale, CHU, Université de Poitiers, Poitiers, France
6. Department of Medical Genetics, Helsinki University Central Hospital, Helsinki, Finlande
7. Department of Clinical Genetics, Odense Universitetshospital, Odense, Danemark
8. Unité de Génétique Chromosomique postnatale, Hôpitaux Brabois, Université de Loraine, Nancy, France

Mots clefs : syndrome microdélétionnel 2p15-p16, USP34, haploinsuffisance

Résumé :

Le syndrome microdélétionnel 2p15-p16.1 a été initialement décrit en 2007 chez deux patients présentant une déficience intellectuelle et une dysmorphie faciale. Depuis, trente-six cas ont été rapportés dans la littérature. Une grande variabilité phénotypique et génétique est retrouvée avec des délétions variant de 103 kb à 9,6 Mb. Le phénotype commun est caractérisé par une déficience intellectuelle, une dysmorphie faciale incluant un télécanthus, une étroitesse bitemporale, un ptosis palpébral et une orientation anti-mongoloide des fentes palpébrales, ainsi que des anomalies congénitales variables. Une microcéphalie s'y associe dans la majorité des cas. Il a été proposé de distinguer deux régions critiques minimales : l'une proximale en 2p15 et l'autre distale en2p16.1. Alors que la région minimale critique 2p16 semble être réduite à *BCL11A*, la région proximale 2p15 contient deux gènes : *XPO1* et *USP34,* le rôle de ce dernier n'étant pas clairement établi. Nous rapportons le cas d'une jeune fille qui présente une déficience intellectuelle modérée, une arachnodactylie, un pectus excavatum, et des traits dysmorphiques chez laquelle une microdélétion 2p15 de 211 kb a été identifiée. Elle présente en outre une cardiopathie congénitale. Ce remaniement *de novo* contient uniquement *USP34,* ce qui à notre connaissance n'a jamais été rapporté. Afin de préciser le rôle de ce gène dans le syndrome microdélétionnel, nous avons réalisé une revue de la littérature et des bases de données. Il semble que l'haploinsuffisance d'*USP34* puisse être associée à des malformations cardiaques, à un habitus marfanoïde et à des troubles neurodéveloppementaux modérés sans microcéphalie, comme observé chez notre patiente.

P723 : Contribution des mutations du gène GHRHR aux déficits isolés en hormone de croissance non syndromiques dans une large cohorte de 313 patients indépendants

Auteurs :

Sabrina Belkacem (1, 2), Enzo Cohen (1), Soumeya Fedala (3), Nathalie Collot (4), Eliane Khallouf (5), Florence Dastot (4), Michel Polak (6), Philippe Duquesnoy (1), Fréderic Brioude (7), Sophie Rose (4), Géraldine Viot (8), Aude Soleyan (4), Jean-Claude Carel (9), Philippe Chanson (10), Frédérique Gatelais (11), Claudine Heinrichs (12), Philippe Talon (13), Noureddine Kaffel (14), Regis Coutant (11), Senay Savas Erdeve (15), Caroline Thalassinos (16), Stanislas Lyonnet (17), Cécile Raverdy (18), Anne Fjellestad-Paulsen (18), Zeynep Siklar (19), Cécile Brachet (12), Serge Amselem (20, 21), Marie Legendre (1, 4)

1. Sorbonne Universités, UMRS_933/UMPC Univ Paris 06, Hôpital Trousseau, Paris, France
2. Faculté de pharmacie, Université Paris Sud, Châtenay-Malabry, France
3. , Hôpital Lamine Debaghine, Bab El Oued, Algérie
4. Département de génétique (Assistance Publique – Hôpitaux de Paris), Hôpital Trousseau, Paris, France
5. Endocrinologie et diabétologie pédiatrique, Hôtel Dieu de France, Beyrouth, Liban
6. Service d'endocrinologie pédiatrique (Assistance Publique – Hôpitaux de Paris), Hôpital Necker, Paris, France
7. Explorations fonctionnelles endocriniennes (Assistance Publique – Hôpitaux de Paris), Hôpital Trousseau, Paris, France
8. Unité de diagnostic anténatal et médecine foetale (Assistance Publique - Hôpitaux de Paris), CHU Paris Centre, Maternité Port-Royal, Paris, France
9. Service d'endocrinologie pédiatrique (Assistance Publique – Hôpitaux de Paris), Hôpital Robert Debré, Paris, France
10. Service d'endocrinologie (Assistance Publique - Hôpitaux de Paris), Hôpital de Bicêtre, Kremlin-Bicêtre, France
11. Département d'endocrinologie diabétologie et nutrition, CHU d'Angers, Angers, France
12. Service d'endocrinologie, Hôpital Universitaire des Enfants Reine Fabiola, Bruxelles, Belgique
13. , CHI Le Raincy Montfermeil, Montfermeil, France
14. Endocrinologie, Dar Attabib, Complexe médical multidisciplinaire, Sfax, Tunisie
15. Département d'Endocrinologie Pédiatrique, Ecole de Médecine de l'Université d'Ankara, Ankara, Turquie
16. Service d'endocrinologie (Assistance Publique - Hôpitaux de Paris), Hôpital Necker, Paris, France
17. Service de génétique médicale (Assistance Publique - Hôpitaux de Paris), Hôpital Necker, Paris, France
18. Service d'endocrinologie pédiatrique (Assistance Publique - Hôpitaux de Paris), Hôpital Robert Debré, Paris, France
19. Département d'endocrinologie pédiatrique, Ecole de Médecine de l'Université d'Ankara, Ankara, Turquie
20. Sorbonne Universités, UMRS_933 Inserm/UPMC Univ Paris 06, Hôpital Trousseau, Paris, France
21. Département de génétique (Assistance Publique - Hôpitaux de Paris), Hôpital Trousseau, Paris, France

Mots clefs : retard de croissance, épidémiologie moléculaire, études fonctionnelles

Résumé :

Contexte : La production et la sécrétion de l'hormone de croissance (GH) par l'hypophyse sont secondaires à la libération de la somatolibérine (GHRH) par l'hypothalamus. La liaison du GHRH à son récepteur (GHRHR), une protéine transmembranaire exprimée par les cellules somatotropes hypophysaires et couplée aux protéines G, stimule la production intracellulaire d'AMPc et *in fine* la sécrétion de GH. A ce jour, quelques mutations du *GHRHR* ont été identifiées chez des patients présentant un déficit isolé en hormone de croissance (IGHD) congénital se transmettant principalement selon un mode autosomique récessif. Une variation hétérozygote du peptide signal du GHRHR faisant suspecter une expression dominante a été rapportée au sein d'une famille. La contribution des mutations de ce gène aux IGHD reste à déterminer.
Objectifs : 1/ Evaluer la contribution des mutations du *GHRHR* dans une cohorte de 313 patients indépendants avec IGHD. 2/ Caractériser l'impact fonctionnel, par des études *in vitro*, de toutes les variations de *GHRHR* identifiées. 3/ Etudier les corrélations génotype/phénotype parmi les porteurs de mutation(s) de *GHRHR*.
Matériels et méthodes : Tous les exons codants et les régions introniques flanquantes du *GHRHR* ont été séquencés. Les études fonctionnelles comportent l'évaluation du caractère pathogène de tous les variants faux-sens identifiés par (i) l'étude de leur localisation sub-cellulaire et (ii) un test de production d'AMPc après liaison du ligand à son récepteur.
Résultats : 23 variations du *GHRHR* ont été identifiées chez un total de 27 patients indépendants. 20 de ces variations sont des mutations pathogènes : 10 mutations tronquantes non ambiguës (incluant 2 délétions, 5 mutations décalant le cadre de lecture, 1 mutation d'épissage et 2 mutations non-sens), et 10 mutations faux-sens dont le caractère pathogène a été démontré par l'absence de réponse AMPc du GHRHR muté en présence du ligand GHRH. Quinze de ces mutations sont nouvelles. Parmi les cas index, 13 patients ont des mutations tronquantes bi-alléliques, 10 portent des mutations faux-sens bi-alléliques et 1 patient est hétérozygote composite pour une mutation d'épissage et une mutation faux-sens. Par ailleurs, des variations hétérozygotes du peptide signal (sans effet délétère décelable) ont été identifiées chez 3 autres patients. Le phénotype clinique et endocrinien des patients porteurs d'une mutation tronquante bi-allélique est similaire à celui des patients porteurs d'au moins une mutation faux-sens.
Conclusion : Cette étude réalisée sur le plus grand nombre de patients analysés à ce jour pour le gène *GHRHR*, qui s'appuie sur l'évaluation fonctionnelle de tous les variants faux-sens détectés, a permis d'identifier 20 mutations causales de ce gène,

dont 15 sont nouvelles. La contribution des mutations du *GHRHR* aux déficits isolés en hormone de croissance est donc significative et s'élève à près de 8% (24/313) des cas dans cette large cohorte.

Assises_génétique2018_SB_final.docx

P724 : Whole Genome Sequencing en trio chez 25 patients avec malformations fœtales et étude en fœtopathologie : intérêt du phénotype inverse.

Auteurs :

Jacques PUECHBERTY (1), Nicole BIGI (1), Khalid FAKHRO (2), Patricia BLANCHET (1), Lucile PINSON (1), Christine COUBES (1), Marjolaine WILLEMS (1), Emmanuelle HAQUET (1), Jean-Baptiste GAILLARD (3), Vincent GATINOIS (3), Anouck SCHNEIDER (3), Thomas GUIGNARD (3), Franck PELLESTOR (3), Jérémie Arash RAFII (2), David GENEVIEVE (1)

1. Département de Génétique Médicale, Maladies Rares et Médecine personnalisée, Service de Génétique Clinique, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France
2. Department of Genetic Medicine, Weill-Cornell Medical College in Qatar, Doha, Qatar
3. Département de Génétique Médicale, Maladies Rares et Médecine personnalisée, Unité de Génétique Chromosomique, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier, France

Mots clefs : WGS, foetopathologie, syndrome malformatif, phénotype inverse

Résumé :

Le séquençage complet du génome ou « Whole Genome Sequencing » ou WGS, méthode de séquençage haut débit, est un outil très puissant d'analyse du génome puisqu'une seule technique permet l'analyse à la fois des variants nucléotidiques (mutations), des variations du nombre de copies (CNV) et des variants structuraux (réarrangements chromosomiques). La possibilité de faire une analyse en trio (cas index et parents) permet de faciliter grandement l'interprétation des données de séquençage. Ce WGS est appliqué avec succès dans les domaines de la génétique chromosomique et moléculaire principalement dans le cadre de la recherche pour l'instant.
Nous rapportons une étude rétrospective incluant 25 fœtus présentant au moins deux malformations de découverte prénatale. L'examen fœtopathologique de ces fœtus après interruption médicale de grossesse a permis d'établir un bilan malformatif complet sans pouvoir affirmer une étiologie spécifique. Les malformations concernaient l'ensemble des territoires tissulaires. Le bilan génétique habituel était normal (caryotype fœtal sans anomalie chromosomique décelée et ACPA sans CNV retenu).
Cette étude a consisté en un séquençage haut débit du génome complet en trio (fœtus et parents). Elle a permis d'identifier l'implication de gènes dans 5 cas (20%). Dans deux cas, le diagnostic génétique avait été suspecté par l'examen fœtopathologique ; il a été confirmé par le WGS par la mise en évidence de mutations *de novo* pour les gènes *NSD1* (Syndrome de Sotos, MIM 117550) et *CHD7* (Syndrome de CHARGE, MIM 214800). Dans trois cas, il n'y avait pas d'orientation diagnostique spécifique après l'examen fœtopathologique. Nous avons identifié des mutations *de novo* probablement causales dans deux gènes de pathologie autosomique dominante [*KMT2D* (Syndrome de Kabuki, MIM 147920) et *ARCN1* (Petite taille, rhizomélie, microcéphalie, micrognathie et retard de développement, MIM 617164)] et des mutations homozygotes dans le gène *MASP1* responsable du syndrome 3MC de transmission autosomique récessive (MIM 257920). Dans tous les cas, l'implication de ces gènes pouvait rendre compte du phénotype fœtal décrit
Ce résultat confirme l'intérêt de cette technique de WGS en trio dans la démarche diagnostique en l'absence d'orientation étiologique spécifique après les examens fœtopathologiques et les analyses cytogénétiques et moléculaires classiques. En effet, cette étude (certes sur un petit échantillon) a permis d'établir un diagnostic non orienté cliniquement dans 12% des cas.
Cette étude souligne l'utilité du séquençage WGS en trio comme examen de deuxième intention pour le conseil génétique.
Elle souligne également l'aspect essentiel de l'examen fœtopathologique dans le diagnostic étiologique. L'analyse des gènes candidats déterminés par le WGS permet par phénotypage inverse une corrélation avec les malformations fœtales constatées.

WGS_foetopath_AG2018_Résumé_v4.docx

P725 : Méthode pour la conservation des acides nucléiques purifiés ou dans les produits dérivés du sang à température ambiante et à très long terme

Auteurs :

Jacques Bonnet (1), Anne-Lise Fabre (2), Sophie Tuffet (3), Marthe Colotte (3), Aurélie Luis (1), Delphine Coudy (1)

1. laboratoire de recherche et développement, Imagene, Bordeaux, France
2. laboratoire de recherche et développement, Imagene, Evry, France
3. Plateforme de biotechnologie industrielle, Imagene, Evry, France

Mots clefs : Température ambiante, acides nucléiques, ADN, ARN, globules blancs, buffy coat, sang, conservation, archivage, nouvelles approches technologiques

Résumé :

En raison de la croissance exponentielle du nombre d'échantillons d'ADN et d'ARN collectés et analysés par les laboratoires de biologie médicale, les biobanques et les CRBs, la conservation à basse température est un problème aigu en termes de sécurité, d'espace, de maintenance, de coûts énergétiques et logistiques. Ceci est accentué par le fait que les normes (accréditation selon ISO 15189) et la réglementation sont de plus en plus exigeantes sur la fiabilité de la traçabilité et de l'archivage post-analytique des échantillons.
Le stockage d'échantillons à température ambiante, si suffisamment efficace, apparaît dans ce contexte extrêmement séduisant. Or les principaux mécanismes de dégradation *ex-vivo* des acides nucléiques impliquent l'intervention de l'eau, soit directement (dépurination, déaminations de bases), soit comme catalyseur (rupture de la liaison phosphodiester, oxydation par l'ozone ou par association avec des ions métalliques). La déshydratation est donc un moyen efficace pour freiner les processus de dégradation, d'autant que l'état solide est connu pour généralement ralentir les processus chimiques en réduisant la mobilité moléculaire. Cependant, même complètement desséchés, si exposés à l'atmosphère, les acides nucléiques se rechargent rapidement en eau et se retrouvent soumis aux facteurs de dégradation. Sur la base de ces observations, Imagene a développé une technologie robuste pour la conservation à température ambiante et au long terme des acides nucléiques purifiés et des produits dérivés sanguins ("buffy coats", globules blancs et sang total).
Celle-ci est basée sur la conservation des échantillons sous atmosphère anhydre et anoxique, maintenue grâce à l'étanchéité de minicapsules inoxydables scellées par soudure laser. Ces minicapsules DNAshell et RNAshell présentent les avantages de l'inviolabilité de leur fermeture et d'une traçabilité infalsifiable en code 2D par marquage laser.
Imagene présente ici des études de suivi de l'intégrité des acides nucléiques purifiés ou dans des biospecimens à température ambiante. Aucune dénaturation ou dégradation ne sont observées au cours d'un vieillissement de plusieurs mois à plusieurs années, alors que sous air, même déshydratés, les acides nucléiques se dégradent rapidement. Par ailleurs, des études de vieillissement accéléré par chauffage ont permis de modéliser l'évolution des acides nucléiques à température ambiante sur le long terme. Ces expériences ont permis d'obtenir par extrapolation les constantes de vitesse de dégradation à 25 °C. Par exemple, pour l'ADN celle-ci serait de 1 à 40 coupures tous les 100 000 nucléotides par siècle. Cette stabilité permet de réaliser des standards, comme des contrôles de qualité.
La qualité des acides nucléiques extraits a été démontrée par électrophorèse en gel d'agarose, spectrophotométrie, fluorimétrie, PCR quantitative, et séquençage assurant que les acides nucléiques extraits sont compatibles avec toute analyse de biologie moléculaire.

Abstract assisses de génétique_VF5.docx

P726 : Regovar, logiciel libre d'analyse et d'interprétation de données de séquençage haut débit pour la recherche et le diagnostic

Auteurs :

Anne-Sophie Denommé-Pichon (1, 2), Olivier Gueudelot (1, 3), Jérémie Roquet (4), June Sallou (5), David Goudenège (1, 3), Sacha Schutz (6, 7), Alban Ziegler (1, 3), Estelle Colin (1, 3), Agnès Guichet (1), Philippe Jonveaux (2, 8), Sandra Mercier (9, 10), Claude Ferec (6, 7), Philippe Parent (11, 7), Frédéric Bilan (12, 13), Brigitte Gilbert-Dussardier (12, 13), Sylvie Odent (14, 15), Véronique David (16, 15), Patrick Vourc'h (17, 18), Annick Toutain (19, 18), Vincent Procaccio (20, 3), Richard Redon (10), Stéphane Bézieau (9, 10), Dominique Bonneau (1, 3)

1. Département de biochimie et génétique, CHU d'Angers, Angers, France
2. Laboratoire de génétique, CHRU de Nancy, Vandœuvre-lès-Nancy, France
3. INSERM UMR 1083, Université d'Angers, Angers, France
4. Recherche et développement, dnalyze.me, Paris, France
5. Centre de BioInformatique de Bordeaux (CBiB), Université de Bordeaux, Bordeaux, France
6. Laboratoire de Génétique Moléculaire et d'Histocompatibilité, CHRU de Brest, Brest, France
7. INSERM UMR 1078, Université de Bretagne Occidentale, Brest, France
8. INSERM UMR 954, Université de Lorraine, Vandœuvre-lès-Nancy, France
9. Service de génétique médicale, CHU de Nantes, Nantes, France
10. INSERM, CNRS, l'Institut du Thorax, Université de Nantes, Nantes, France
11. Service de Génétique, CHRU de Brest, Brest, France
12. Service de Génétique, CHRU de Poitiers, Poitiers, France
13. EA3808, Université de Poitiers, Poitiers, France
14. Service de Génétique Clinique, CHU de Rennes, Rennes, France
15. CNRS UMR 6290, Université de Rennes 1, Rennes, France
16. Laboratoire de Génétique Moléculaire, CHU de Rennes, Rennes, France
17. Service de Biochimie et de Biologie Moléculaire, CHRU de Tours, Tours, France
18. INSERM UMR 930, Université François-Rabelais de Tours, Tours, France
19. Service de génétique, CHRU de Tours, Tours, France
20. Département de Biochimie et Génétique, CHU d'Angers, Angers, France

Mots clefs : Séquençage haut débit, exome, génome, bioinformatique, logiciel

Résumé :

Présentation – REGOVAR est un projet collaboratif, libre et ouvert de logiciel d'analyse de données de séquençage haut débit avec une interface graphique simple et conviviale pour les panels de gènes, les exomes et les génomes (DPNI, recherche de SNV, CNV, SV…). Le projet est financé dans le cadre d'un appel d'offre du GIRCI des Hopitaux Universitaires Grand Ouest (HUGO, Angers, Brest, Nantes, Poitiers, Rennes et Tours) pour structurer les échanges entre généticiens cliniciens, biologistes et bioinformaticiens impliqués dans le diagnostic moléculaire des maladies génétiques rares. Si la bioinformatique médicale appliquée au NGS permet aujourd'hui d'analyser avec succès un grand nombre de données au sein d'un CHU ou d'une région, elle souffre d'un manque de coordination à l'échelle régionale et nationale. REGOVAR vise à impliquer et fédérer les différentes communautés concernées, sans limites institutionnelles ou géographiques. Il se base exclusivement sur des technologies et des logiciels libres et gratuits, éliminant toute contrainte contractuelle et budgétaire.
Objectifs – REGOVAR est un logiciel permettant le traitement de données génétiques, depuis la récupération des fichiers produits par les séquenceurs, quelle qu'en soit la technologie, jusqu'à la génération de rapports illustrés et de comptes-rendus d'analyse en passant par les contrôles de qualité, la détection, l'annotation, le filtrage, la priorisation et la visualisation de variants. Son architecture client-serveur permet une utilisation depuis des ordinateurs de bureau sous Windows, Linux et macOS, via une interface graphique claire et intuitive conçue pour permettre l'analyse des données par des généticiens n'ayant pas de compétence spécifique en bioinformatique (filtres de variants enregistrables, simplification de la bioanalyse…). Sa conception modulaire permet d'intégrer dynamiquement de nouveaux pipelines, quelles que soient leurs dépendances, qui peuvent être partagés au sein de la communauté. Ces échanges de pipelines permettront à terme l'harmonisation des bonnes pratiques avec des pipelines unifiés nationalement et validés par l'ANPGM. REGOVAR intègre une base de données principale dimensionnée pour supporter aussi bien l'analyse de panels, d'exomes que de génomes complets. Cette base est enrichie de données publiques telles que celles provenant de gnomAD et dbNSFP, ainsi que de données locales. Des échanges anonymisés de certaines informations recueillies sont possibles. REGOVAR permet une utilisation aussi bien en recherche qu'en diagnostic (norme ISO 15189). REGOVAR est en cours de développement et devrait être disponible courant 2018.
Appel à collaboration – Le projet est ouvert à toute personne souhaitant apporter sa contribution : idées, intégration de pipeline, développement, test, documentation… Informations disponibles sur http://regovar.org/.

P727 : Spectre phénotypique PDAC (Pulmonary hypoplasia/agenesis, Diaphragmatic hernia/eventration, Anophthalmia/microphthalmia, Cardiac defect) chez 3 fœtus d'une même famille : identification d'une nouvelle mutation de STRA6 et d'une microdélétion 2p14p15

Auteurs :

Marie DENIS MUSQUER (1), Nicolas CHASSAING (2), Thomas BESNARD (3), Kamran MORADKHANI (3), Benjamin COGNE (3), Marie VINCENT (3), Sandra MERCIER (3), Marie-Line BICHON (3), Laura GUYON (3), Olivier PICHON (3), Stéphane BEZIEAU (3), Norbert WINER (4, 5), Claudine LE VAILLANT (4, 5), Madeleine JOUBERT (1), Claire BENETEAU (3, 5)

1. Service d'Anatomie Pathologique, CHU Hôtel Dieu, Nantes, France
2. Service de génétique médicale, CHU de Toulouse, Toulouse, France
3. Service de génétique médicale, CHU Hôtel Dieu, Nantes, France
4. Service de gynécologie-obstétrique, CHU Hôtel Dieu, Nantes, France
5. Centre Pluridisciplinaire de Diagnostic Prénatal, CHU Hôtel Dieu, Nantes, France

Mots clefs : Syndrome PDAC, Syndrome de Matthew-Wood, STRA6, microdélétion 2p14-p15, mutation d'épissage

Résumé :

Nous rapportons les observations de 3 fœtus issus d'une même famille présentant des anomalies du spectre phénotypique PDAC. Les deux premiers, interrompus à 21 et 34 SA présentaient à l'autopsie une anophtalmie, une cardiopathie (hypoplasie du cœur gauche et tronc artériel commun), des poumons monolobés et hypoplasiques, des anomalies rénales (hydronéphrose et reins hypoplasiques), un hirsutisme, une dysmorphie, et une éventration diaphragmatique pour l'un des fœtus. Le troisième, interrompu à 30 SA, présentait de même une éventration diaphragmatique bilatérale, des poumons hypoplasiques et quadrilobés, une anomalie rénale (pyélectasie bilatérale) et une dysmorphie mais pas d'anomalie cardiaque, ni oculaire ni d'hirsutisme. Il avait aussi été noté des anomalies génitales (hypospade et cryptorchidie bilatérale). Devant l'association d'anomalies oculaire, cardiaque, pulmonaire et diaphragmatique, un syndrome PDAC a été évoqué. Egalement appelé syndrome de Matthew-Wood, il s'agit d'un syndrome malformatif rare de transmission autosomique récessive. Il associe une atteinte oculaire jusqu'à présent constamment rapportée à type d'anophtalmie ou microphtalmie, à un spectre malformatif touchant en particulier le cœur, les poumons et le diaphragme. En 2007, des mutations de STRA6, gène impliqué dans le transfert intra-cellulaire de la vitamine A ont été identifiées chez des fœtus qui présentaient des malformations du spectre PDAC (Passuto 2007).
Dans cette famille, l'analyse par séquençage de STRA6 a permis l'identification d'une nouvelle mutation située dans le site d'épissage de l'exon 14. Son caractère pathogène a été confirmé par des études de l'ARNm par RT-PCR qui ont montré la création d'un site d'épissage alternatif conduisant à la formation d'un codon stop. Cette mutation était retrouvée à l'état homozygote chez le deuxième fœtus et à l'état hétérozygote chez le troisième Une analyse de RARB puis une analyse d'exome chez ce troisième fœtus n'a pas mis en évidence d'autre variant pathogène. Depuis 2007, 28 mutations ont été rapportées chez 44 fœtus ou patients. Leur description a souligné d'une part l'étendue du spectre phénotypique associé à ces mutations et d'autre part l'absence de corrélation entre le phénotype et le génotype (Chassaing 2009, Marcadier 2016). Chez le troisième fœtus l'examen par CGH array a mis en évidence une microdélétion de novo de 3,45 MB dans la région 2p14p15 emportant 14 gènes OMIM. Dans la littérature, 8 observations avec des points de cassures proches ont été rapportés chez des enfants avec un retard mental, des traits dysmorphiques proches de celui du fœtus, mais pas de malformation hormis du tractus urogénital (Jorgez 2014). Ce troisième fœtus présentait a posteriori un phénotype atypique pour un syndrome PDAC devant l'absence d'anomalie oculaire. Ces observations soulignent l'importance des malformations oculaires pour retenir ce syndrome rare.

abstract assises de génétique- version finale.doc

P728 : ASPECTS CLINIQUES ET PARACLINQUES DU SYNDROME DE SCHINZEL-GIEDION : A PROPOS D'UN CAS

Auteurs :

Souhir Guidara (1), Nourhène Gharbi (2), Fatma Abdelhèdi (2), Manel Guirat (2), Ikhlas ben Ayed (2), Imen Boujelbène (3), Lobna Maalej (4), Abdelmajid Mahfoudh (5), Neila Belguith (4), Hassen Kamoun (4)

1. Service de Génétique Médicale, CHU Hèhi chaker Sfax, Sfax, Tunisie
2. Service de Génétique Médicale, CHU Hèdi Chaker Sfax, Sfax, Tunisie
3. Service de Génétique Médicale, CHU Hèdi Chaker Sfax , sfax, Tunisie
4. Service de Génétique Médicale, CHU Hèdi Chaker Sfax, sfax, Tunisie
5. Service de Pédiatrie Urgence et Réanimation pédiatrique , CHU Hèdi chaker Sfax, sfax, Tunisie

Mots clefs : Schinzel-Giedion, gène SETBP1, autosomique dominante, syndrome polymalformatif

Résumé :

ASPECTS CLINIQUES ET PARACLINQUES DU SYNDROME DE SCHINZEL-GIEDION : A PROPOS D'UN CAS

Souhir Guidara[(1)], Nourhène Gharbi[(1)], Fatma Abdelhèdi[(1)], Manel Guirat[(1)], Ikhlas ben Ayed[(1)], Imène Boujelbène[(1)], Lobna Maalej[(1)], Abdelmajid Mahfoudh[(2)], Neila Belguith[(1)], Hassen Kamoun[(1)]

1- Service de Génétique Médicale
2- Service de Pédiatrie Urgence et Réanimation pédiatrique

INTRODUCTION

Le syndrome de Schinzel-Giedion est un syndrome rare de transmission autosomique dominante caractérisé sur le plan clinique par un retard de croissance postnatal, un retard psychomoteur profond, une dysmorphie faciale très marquée, des troubles génito-urinaires, squelettiques, neurologiques, cardiaques et une déficience intellectuelle très sévère. Récemment le gène *SETBP1* a été identifié comme le gène responsable de ce syndrome, il s'agit de mutations de novo. Un nombre limité de patients ayant une confirmation moléculaire ont été signalés à ce jour.

OBJECTIFS

L'objectif de ce travail est de rapporter les signes cliniques et paracliniques associés au syndrome de Schinzel-Giedion

OBSERVATION

Nous rapportons le cas d'un patient âgé de 3mois, issu d'un mariage non consanguin, adressé à notre consultation pour une dysmorphie faciale faite d'une rétraction de l'étage moyen, deux bosses frontales, une exophtalmie ,un hypertélorisme et une insertion basse des oreilles, cette dysmorphie est associée à un syndrome polymalformatif avec des déformations osseuses, un reflux vésico-urétéral bilatéral et une hydronéphrose, une dilatation triventriculaire avec une hypoplasie du corps calleux à l'imagerie cérébrale, une hypertrichose généralisée, un micropénis et une épilepsie. Devant la dysmorphie faciale caractéristique ainsi que le syndrome polymalformatif chez ce patient le syndrome de Schinzel-Giedion a été évoqué. Le phénotype de notre patient est similaire au phénotype décrit chez des patients rapportés dans la littérature. Initialement le diagnostic est basé uniquement sur des critères cliniques. Récemment des mutations hétérozygotes de novo du gène *SETBP1* (18q21.1) ont été rapportées dans ce syndrome bien que la première description a suggéré un mode de transmission autosomique récessif.

Pour confirmer le diagnostic chez notre patient nous envisageons une étude moléculaire à la recherche d'une mutation du gène *SETBP1*.

Conclusion

Le syndrome de Schinzel-Giedion présente des malformations potentiellement graves et mortelles, le diagnostic doit être établi précocement pour pouvoir gérer correctement ces complications. L'histoire naturelle de ce syndrome doit être bien étudiée pour faire une meilleure prise en charge et fournir un conseil génétique adéquat à ces patients.

Syndrome de Schinzel'.docx

P729 : Mise en place du « Réseau NGS Diagnostic » (Réseau NGS-Diag), présentation et objectifs

Auteurs :

Cécile Rouzier (1), Nicolas Sevenet (2), Boris Keren (3, 4), Philippe Vago (5), Stéphanie Baert-Desurmont (6, 7), Martine Doco-Fenzy (8), Damien Sanlaville (9), Benoit Arveiler (10), Claude Houdayer (11, 12), Jean Muller (13)

1. Service de Génétique, CHU de NICE, NICE, France
2. 1- GGC, Groupe Génétique et Cancer, http://www.unicancer.fr/la-recherche-unicancer/les-groupes-transversaux/groupe-genetique-cancer-ggc, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France
3. ACLF, Association des Cytogénéticiens de Langue Française, http://www.eaclf.org/, Hôpital La Pitié Salpétrière, Paris, France
4. AchroPuce, Réseau d'Analyse Chromosomique sur Puces à AND, http://www.renapa.univ-montp1.fr/, Hôpital La Pitié Salpétrière, Paris, France
5. ACLF, Association des Cytogénéticiens de Langue Française, http://www.eaclf.org/, CHU de Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, France
6. GGC, Groupe Génétique et Cancer, http://www.unicancer.fr/la-recherche-unicancer/les-groupes-transversaux/groupe-genetique-cancer-ggc, CHU de Rouen, Rouen, France
7. ANPGM, Association Nationale des Praticiens de Génétique Moléculaire ; http://www.anpgm.fr/, CHU de Rouen, Rouen, France
8. ACLF, Association des Cytogénéticiens de Langue Française, http://www.eaclf.org/, CHU de Reims, Reims, France
9. AchroPuce, Réseau d'Analyse Chromosomique sur Puces à AND, http://www.renapa.univ-montp1.fr/, CHU de Lyon, Lyon, France
10. 1- ANPGM, Association Nationale des Praticiens de Génétique Moléculaire ; http://www.anpgm.fr/, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France
11. GGC, Groupe Génétique et Cancer, http://www.unicancer.fr/la-recherche-unicancer/les-groupes-transversaux/groupe-genetique-cancer-ggc, Institut Curie, Paris, France
12. ANPGM, Association Nationale des Praticiens de Génétique Moléculaire ; http://www.anpgm.fr/, Institut Curie, Paris, France
13. ANPGM, Association Nationale des Praticiens de Génétique Moléculaire ; http://www.anpgm.fr/, CHU de Strasbourg, Strasbourg, France

Mots clefs : Réseau NGS-Diag, NGS

Résumé :

Depuis 5 ans environ, l'arrivée du séquençage de nouvelle génération haut débit (NGS) a révolutionné les stratégies diagnostiques de génétique biologique. Grâce à des financements de la DGOS et de l'INCa, les laboratoires de génétique moléculaire et de cytogénétique ont eu accès à des séquenceurs haut débit et l'offre diagnostique a augmenté de façon exponentielle. Pour répondre aux besoins de structuration et d'organisation qu'impliquait cette révolution, 5 groupes de travail sur les thématiques de bioinformatique, veille technologique, éthique, qualité et validation de méthode et mise en place des panels dans les réseaux/filières ont été mobilisés au sein de l'ANPGM. La constitution du réseau NGS-Diag a fait suite à cette mobilisation. Les sociétés savantes ACLF et GGC et le réseau AchroPuce se sont joints à l'ANPGM pour constituer un réseau transversal, le réseau NGS-Diag.
L'objectif du réseau est de créer une cohésion entre les différents laboratoires de génétique qui eux-mêmes interagissent avec les filières de santé maladies rares ou au sein des réseaux clinico-biologiques d'oncogénétique reconnus par l'Institut National du Cancer. Cette cohésion permettra de faciliter l'élaboration et la publication de recommandations professionnelles et de guides de bonnes pratiques nationaux dans le cadre de l'accréditation selon la norme ISO15189, ainsi que la mise en place de stratégies diagnostiques cohérentes et harmonisées entre les différentes filières et entre les réseaux d'oncogénétique (définition et place des panels, place du séquençage d'exome et du génome complet) et ainsi d'avoir une meilleure lisibilité vis-à-vis de la communauté nationale et internationale. Il entend également participer à la diffusion de ces recommandations au travers d'EPU (Enseignements Post-Universitaires) en lien avec les sociétés savantes sus-citées.
Le réseau NGS-Diag accompagnera la mise en place du plan France Médecine Génomique 2025 et plus particulièrement la mise en œuvre des deux premières plateformes AURAGEN et SeqOIA. Il a également la volonté d'accompagner de manière pragmatique, sur les versants de la pratique expérimentale et de l'interprétation, la réflexion autour de la refonte des modalités de facturation RIHN des actes NGS en lien avec les sociétés savantes.

P730 : Intérêt de l'analyse de pools parentaux en séquençage haut-débit de panels ciblés ou d'exomes entiers

Auteurs :

Claire Feger (1), Elsa Nourrisson (1), Celine Cuny (1), Frederic Tran Mau Them (1), Jamel Chelly (2), Jean-Louis Mandel (2), Bénédicte Gerard (3), Amélie Piton (4)

1. laboratoire de génétique moléculaire, hopitaux universitaires de strasbourg, strasbourg, France
2. Département de neurogénétique médecine translationnelle, IGBMC, Illkirch, France
3. Laboratoire de Diagnostic Génétique, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, , Strasbourg, France
4. Département de neurogénétique médecine translationnelle, IGBMC, Strasbourg, France

Résumé :

Le séquençage de grands panels de gènes et d'exome médical ou entier est réalisé dans le cadre du diagnostic de la déficience intellectuelle (DI). Plus de 1000 patients ont été analysés par séquençage ciblé (et une centaine par séquençage d'exome) à Strasbourg et des diagnostics ont été posés dans plus de 25% des patients : il s'agit le plus souvent (70 % des cas) de néo-mutations survenant dans des gènes à transmission autosomique dominante (AD). L'absence d'une mutation pathogène ou probablement pathogène était ensuite vérifiée chez les parents par séquençage Sanger, ce qui alourdissait de façon considérable la réalisation de ces tests : design d'amorces « à façon », amplification et séquençage Sanger suivi d'un test de compatibilité de trio (analyse de STR) dans le cas d'une mutation de novo. De plus, une analyse parentale était également nécessaire pour l'interprétation des nombreux variants faux-sens de signification inconnue (VOUS) identifiés dans des gènes impliqués dans des formes AD de DI.
Nous avons donc mis en place un séquençage ciblé des ADN parentaux 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. De manière à ne pas tripler le prix de l'analyse, ces parents parentaux sont poolés avant la préparation de la librairie, par 14 pour le séquençage ciblé et par 6 pour le séquençage d'exome entier. Les ADN sont poolés de façon équimolaire (calcul du nombre de molécules et pas uniquement de la concentration massique) et chaque pool est ensuite traité comme un échantillon unique. Pour les cas sporadiques, en plus de faciliter l'analyse des variants prometteurs, cette analyse de pools parentaux permet de mettre en évidence des variants de novo avec effet a priori plus subtil (variants introniques, variants en 5' du gène, etc). Cela permet également de vérifier la compatibilité du trio parents-enfant. Pour le séquençage d'exome entier, ils présentent un avantage supplémentaire, la possibilité de mettre en évidence des variations de novo dans des nouveaux gènes non associés à une pathologie humaine, mais qui grâce au data sharing peuvent être confirmés comme nouveaux gènes de DI assez rapidement. Pour les formes autosomiques récessives, l'analyse des pools parentaux permet de confirmer directement le statut d'hétérozygote composite chez l'enfant. Enfin, selon la structure de la famille, des apparentés atteints autres que les parents peuvent être inclus dans ces pools.
La mise en place de cette méthode d'analyse des parents en pool permet une meilleure efficacité et rapidité de l'analyse de panel de gènes ou de l'ensemble des gènes par séquençage haut-débit.

P731 : Les variations en nombre de copies dans la population Tunisienne

Auteurs :

Lilia Romdhane (1), Saida Lahbib (2), Olfa Messaoud (1), Mariem Ben Rekaya (2), Safa Romdhane (1), Lotfi Chouchane (3), 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, Tunisie
3. Laboratory of Genetic Medicine and Immunology, Weill Cornell Medical College in Qatar, Qatar Foundation, Doha, Qatar

Mots clefs : variation en nombre de copie, CNV, population Tunisienne, polymorphisme

Résumé :

Les variations en nombre de copie (*Copy Number Variation*, CNV) sont une forme de variabilité du génome définies comme étant des segments d'ADN de taille supérieure à 1kb et dont le nombre de copie diffère par rapport à un génome de référence. Un CNV est considéré comme polymorphe si sa fréquence dans la population est supérieure ou égale à 1 %. Une seule copie ou les effets combinés de plusieurs réarrangements génomiques incluant délétion, insertion, duplication et translocation non équilibrées peuvent être les causes de la formation des CNV. Ces derniers peuvent avoir une conséquence sur l'expression génique et phénotypique par l'altération des gènes à effet dosage-dépendant, l'interruption des séquences codantes et l'action sur la régulation des gènes voisins. Ainsi, les CNV ont été rapportés comme étant associés à diverses maladies neurologiques comme l'autisme et la schizophrénie ainsi que d'autres pathologies complexes. De récentes études focalisant sur les CNV chez quelques ethnies comme les Coréens, les Chinois et les Européens ont souligné la présence d'un enrichissement de CNV spécifiques de population. De telles données sont inexistantes pour certaines populations de l'Afrique du Nord comme la Tunisie. Dans cette étude, nous avons étudié les CNV chez 102 individus sains d'origine Tunisienne génotypés avec la puce Affymetrix 6.0. Grâce à l'algorithme de Chaînes de Markov cachées implémenté dans le logiciel PennCNV, 3964 CNV ont été détectés avec en moyenne 39 segments par individus. La taille moyenne des CNV est de 96,7 kb. Les délétions représentent 66,5 % des CNV avec une taille moyenne de 65.98 kb inférieure des duplications de l'ordre de 173 kb. Ces CNV ont été regroupés en 751 CNVR (*CNV region*) de taille moyenne de 104 kb et couvrant 78 Mb du génome. Soixante pourcent des CNVR ont une fréquence inférieure à 1%. L'interrogation de la base de données DGV a montré que 2,9 % des CNVR n'y sont pas répertoriés. Environ 34% des CNVR chevauchent 234 gènes de RefSeq. L'annotation par Gene Ontology a révélé que ces derniers sont essentiellement enrichis de manière significative en fonction cellulaire de type « liaison d'ion de calcium » (0,4% ; p-value=7 10^{-4}), impliqués dans des processus cellulaire comme « adhésion cellulaire » (7 % ; p-value=1,45 10^{-4}) ainsi que « développement du système nerveux » (19% ; p-value=1,45 10^{-5}). Ils sont également enrichis en composantes cellulaires comme la synapse (9,5 % ; p-value=6,47 10^{-3}) et la « composante intégrale de la membrane plasmique » (13,2%; p-value=3,6 10^{-2}). Nos résultats préliminaires suggèrent la nécessité d'une caractérisation complète des CNV dans la population Tunisienne et de la construction d'une carte qui servira aux études médicales

CNV_Tunisia-Assises2018.docx

P732 : Le syndrome de Waardenburg type 1: étude de la variabilité clinique et génétique

Auteurs :

Faten Hsoumi (1), Madiha Trabelsi (2, 3), Malek Nouira (3), Sana Karoui (2), Ines Ouertani (2, 3), Lilia Kraoua (2, 3), Rym Meddeb (2, 3), Valérie Benoit (4), Faouzi Maazoul (2, 3), Ridha Mrad (2, 3)

1. Service de maladies congénitales et héréditaires, Hôpital Charles Nicolle, Tunis, Tunisie
2. Service des maladies congénitales et héréditaires, Hôpital Charles Nicolle, Tunis, Tunisie
3. Laboratoire de génétique humaine , Faculté de médecine de Tunis, Tunis, Tunisie
4. Centre de Génétique Humaine, Institut de Pathologie et de Génétique - Gosselies, Gosselies, Belgique

Mots clefs : Syndrome de Waardenburg, corrélation phénotype génotype, séquençage, MLPA

Résumé :

Le syndrome de Waardenburg (OMIM: 193500) est une maladie génétique à l'origine de 3 à 6% des surdités congénitales. Elle est la cause la plus fréquente des surdités congénitales syndromiques dominantes. Le diagnostic est évoqué devant une surdité congénitale neuro-sensorielle et des anomalies de pigmentation cutanée, capillaire et irienne. Il existe 4 types définis selon la présence ou non de symptômes additionnels.
On s'intéresse dans ce travail aux caractéristiques clinico-génétiques d'une série de 6 patients tunisiens présentant le sous type 1 (WS1), qui associe aux signes précédemment décrits une dystopie des canthi et qui est causé par des mutations du gène *PAX3*. Un séquençage de ce gène a été pratiqué pour toute la série. On a complété par une analyse par MLPA pour les patients sans mutations *PAX3*.
Il s'agit de 6 patients WS1 dont deux sont apparentés (une mère et son fils). Le sex ratio était de 1 et l'âge moyen était de 10 ans. Le motif de consultation le plus fréquent était la surdité congénitale (5/6). Le développement psychomoteur était normal chez 3/5 patients alors qu'une absence du langage était notée chez 2/5 patients. L'examen physique a noté une dystopie des canthi (6/6), des anomalies de la pigmentation de l'iris et des cheveux (5/6), des tâches hypochromiques (2/6), un hypertélorisme (5/6) et une racine du nez proéminente (5/6). Le bilan audiométrique a objectivé une surdité bilatérale dans tous les cas.
Sur le plan génétique, le caryotype sanguin était normal dans tous les cas. Le séquençage du gène *PAX3* a révélé chez 4 patients 3 nouvelles mutations au niveau des exons 2 et 6. La mutation de l'exon 2 est une délétion de 9 nucléotides entraînant une délétion de 3 acides aminés à partir du codon 55 **[c.164delTCCGCCACA/p.Ile55_His57del].** Les 2 mutations retrouvées sur l'exon 6 sont une délétion du troisième nucléotide du codon 314 **[c.942delC/p.Pro314ProfsX67]** et une duplication de 4 nucléotides à partir de la position 933 **[c.933_936dupTTAC/p.Gln313LeufsX98].** Chez les 2 patients restants on a complété par une analyse par MLPA du gène *PAX3* qui a objectivé chez un seul patient une délétion hétérozygote des exons 5 à 9.
La confrontation clinico-génétique faite dans notre série a révélé une variabilité inter et intrafamiliale et un même phénotype pour des mutations différentes (une mutation ponctuelle et une grande délétion). Ceci confirme l'absence de corrélation phénotype-génotype préalablement décrite dans la littérature et complique le conseil génétique dans les familles concernées. Par ailleurs, l'absence de mutation du gène *PAX3* chez le dernier patient soulève l'hypothèse de l'implication d'autres gènes dans le WS1.

Abstract Syndrome de Waardenburg. Hsoumi F..docx

P733 : Caractérisation fonctionnelle de deux variantes du gène ABCB4 et évaluation de la performance des logiciels de prédiction in silico relative à ce gène

Auteurs :

Boudour Khabou (1), Anne-Marie Durand-Schneider (2), Jean-Louis Delaunay (2), Tounsia Ait-slimane (2), Véronique Barbu (2), Faiza Fakhfakh (3), Chantal Housset (2), Michèle Maurice (2)

1. Centre de Recherche Saint-Antoine, F-75012, Paris, France, Sorbonne universités, SFAX, Tunisie
2. Centre de Recherche Saint-Antoine, F-75012, Paris, France, Sorbonne universités, Paris, France
3. , , SFAX, Tunisie

Mots clefs : Caractérisation in vitro, ABCB4, logiciels de prédiction, confrontation in silico/in cellulo

Résumé :

Selon la base de données HGMD, plus que 120 variantes de faux-sens ont été décrites dans le gène ABCB4 codant la protéine MDR3. L'effet de ce type de variations demeure incertain contrairement aux autres types de variations y compris les faux-sens, les mutations d'épissage et celles qui conduisent vers un décalage du cadre de lecture. Dans ce contexte, une panoplie de logiciels de prédiction *in silico* a été mise à la disposition des chercheurs afin d'estimer l'effet potentiel des variations faux-sens et sélectionner par conséquence les meilleurs candidats pour une caractérisation fonctionnelle. Toutefois, l'utilisation de plusieurs logiciels de prédiction peut aboutir à des résultats contradictoires pour la même substitution testée et crée des difficultés à propos la conclusion à tenir quant à son effet. Face à ces données, nous avons choisi de caractériser, à l'échelle in silico et in vitro, deux variations c.1584G > C (p.E528D) et c.3481C > T (p.P1161S) décrites dans le gène ABCB4. L'analyse in silico englobe ensuite toutes les variations faux-sens du gène ABCB4 rapportées dans la base de données HGMD afin de confronter les résultats de prédiction par rapport à l'effet réel de ces variations et assurer, par conséquence, une évaluation de la performance de logiciels de pathogénicité relative au gène ABCB4.
La pathogénicité de p.E528D et p.P1161S est prédite par quatre logiciels Provean, Poly-phen2, PhD-SNP et MutPred dont la différence des bases de prédiction de chacun était à l'origine de notre choix. Ces logiciels admettent que p.P1161S est délétère alors que pour la mutation p.E528D elle est considérée comme délétère par MutPred et PhD-SNP et neutre par Poly-phen et Provean. L'expression dans des modèles cellulaires de protéines mutées montrent que ces deux mutations n'affectent ni la localisation ni la maturation de la protéine. Toutefois, une réduction de l'activité de la protéine MDR3 est notée à 48% par p.P1161S et à 33% par p.E528D. L'ampleur de la réduction est en étroite relation avec l'ampleur de l'altération structurale causée par E528D (RMSD=3.56 Å) et P1161S (RMSD=8.51 Å), séparément comme il a été visualisé par Swiss-PDB viewer.
Une prédiction de pathogénicité in silico à travers les 4 logiciels de prédiction précédemment cité a été performée ensuite pour une série de 84 variantes ABCB4 dont l'effet est connu. Une comparaison entre les résultats fournis *in silico* et celles prouvés *in vitro* ou à travers des études de co-ségrégation montre que la meilleure performance est attribué à MutPred avec un pourcentage de correctes prédictions estimé de 95% suivie par Provean et Poly-phen2 (76% de correctes prédictions) et Phd-SNP (71% de correctes prédictions). Ces résultats prouvent que MutPred , largement rapporté parmi les meilleurs logiciels de prédiction, peut être considéré comme le logiciel de prédiction de choix pour estimer l'effet des variations dans le gène ABCB4.

P734 : Svagga : un outil d'annotation des variants structuraux dans un cadre diagnostique.

Auteurs :

Pierre-Antoine Rollat-Farnier (1, 2), Flavie Diguet (2), Thomas Simonet (3, 4), Nicolas Chatron (2), Damien Sanlaville (2), Claire Bardel (4, 1), Caroline Schluth-Bolard (2)

1. Plateforme NGS - CHU Lyon, Service de biostatistique - bioinformatique, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
2. GHE, Service de Génétique, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
3. Centre de Biologie Cellulaire, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
4. Université Claude Bernard Lyon 1, CNRS, Laboratoire de Biométrie et Biologie Evolutive - UMR5558, Lyon, France

Mots clefs : Variants structuraux, séquençage haut débit, annotation, diagnostic

Résumé :

Le séquençage haut-débit (NGS), utilisé en routine diagnostique pour la caractérisation des variants pathogènes, permet théoriquement de détecter l'ensemble des variants structuraux (SV) d'un patient. En pratique, les stratégies usuelles basées sur la capture de régions cibles (panels de gènes, exomes) s'avèrent inefficaces. Tout d'abord, l'ensemble des variants structuraux équilibrés (BCA) que sont par exemple les inversions et les translocations ne laissent d'autre signal que leurs points de cassure – signal dont la probabilité d'être capturés par séquençage ciblé est faible. Ensuite, ces techniques biaisent énormément la profondeur de séquençage, ce qui perturbe fortement la détection des variants dans le nombre de copies (CNV) – c.-à-d. les duplications et délétions.
Le séquençage complet de génomes (WGS) permet par définition de séquencer l'ensemble du génome – et donc des points de cassure des SV – et ce, sans les biais inhérents au séquençage ciblé. La démocratisation attendue de cette stratégie devrait ainsi favoriser la prise en compte des SV en routine diagnostique. Or, si énormément d'outils de détections de ces événements ont été conçus, aucun ne s'est encore imposé. De plus, cette explosion logicielle ne concerne que la détection brute de ces événements, et à notre connaissance, peu voire pas d'outils proposent une annotation pertinente des SV dans un cadre diagnostique.
Pour répondre à ces problématiques, nous présentons Svagga (pour **SV AGG**regator and **A**nnotator), un logiciel dédié à l'annotation des SV. Codé en perl, et ne nécessitant pas d'installations préalables, Svagga accepte des entrées de plusieurs programmes pour un même échantillon, et plusieurs échantillons en entrée. Cela permet (i) de résumer l'information intra-échantillon, avec pour chaque variant des informations provenant des différents logiciels ; (ii) de comparer les SV des différents échantillons, afin de filtrer les SV récurrents, qu'ils soient des artefacts ou de réels polymorphismes.
Différents paramètres vont régir le comportement de Svagga. Pour considérer deux SV comme étant identiques, l'utilisateur va décider de la distance maximale entre leurs points de cassure (CNV et BCA), ou de leur chevauchement minimal (CNV). Il va pouvoir jouer sur la réciprocité et la transitivité des relations entre SV, et décider de traiter à part ou non les CNV et les BCA. Concernant l'annotation biologique, différentes options permettent de croiser les SV détectés avec des fichiers BED et tabulés, ainsi qu'avec des données géniques provenant des tables d'UCSC. Enfin, Svagga regroupe les SV susceptibles d'appartenir à un même événement complexe, ce qui s'avère utile pour l'étude des chromothripsis, caractérisés parfois par des dizaines de points de cassure.
Svagga a déjà pu être testé avec efficacité sur une cinquantaine de génomes dans le cadre du projet de recherche ANI, et est inclus en routine diagnostique dans notre laboratoire de Cytogénétique.

P735 : Leaves, une application web libre et open-source pour l'interprétation de variants dans un cadre diagnostic

Auteurs :

Vivien Deshaies (1), Mathieu Barthelemy (1), Jocelyn Brayet (1), Romain Daveau (1), Camille Barette (1)

1. Plateforme de bioinformatique - WIND, AP-HP, Paris, France

Mots clefs : NGS, variants, annotations, interprétation, partage, open-source

Résumé :

L'utilisation des technologies de séquençage NGS dans un cadre diagnostique se démocratise de plus en plus. L'interprétation des variants nécessite l'utilisation de logiciels permettant leur annotation et leur filtrage de manière reproductible. Actuellement, les applications permettant ce type d'analyses, sont principalement des solutions commerciales, pour certaines hébergées sur des serveurs à l'étranger. L'achat ou l'utilisation d'applications représentent un coût important pour les hôpitaux et leurs fonctionnalités ne répondent pas à tous les besoins, notamment vis-à-vis de la législation en vigueur pour l'hébergement de données de santé.
Afin de proposer une solution répondant aux divers besoins relevés au niveau des 39 hôpitaux de l'AP-HP, tout en respectant la législation en vigueur, nous avons développé, au sein de la plateforme de bioinformatique de l'AP-HP, une application web permettant l'annotation et le filtrage des données variants nommée Leaves. L'objectif de Leaves est d'aider les praticiens à interpréter les variants générées par leur routine de séquençage NGS à but diagnostic. Leaves permet de filtrer des variants en fonction de critères techniques de séquençage tel que la profondeur mais également en utilisant des bases de données d'annotations publiques (1000g, gnomAD, clinVar …) et en fonction de critères familiaux. Leaves, en constituant une base de donnée de variants, permet l'affichage des occurrences de chaque variant au niveau de chaque projet mais également au niveau de la base de données complète. Enfin Leaves permet le partage de commentaires et d'interprétations sur chaque variants entre tous les professionnels de l'AP-HP.
Bien que Leaves soit dans un premier temps destiné à une utilisation au sein même de l'AP-HP, l'objectif à long terme est de distribuer cette application sous licence libre et open-source pour une distribution plus large.

P736 : Macrophtalmie et dilatation des grands vaisseaux : un nouveau syndrome ?

Auteurs :

Margaux Serey (1), Gillis Elisabeth (2), Saleh Maher (3), Schwartz Claire (3), Cabrol Christelle (1), Aline Verstraeten (2), Loeys Bart (2), Van Maldergem Lionel (1)

1. Centre de Génétique Humaine, CHRU Besançon, Besançon, France
2. Laboratorium voor Moleculaire Biologie, Centrum Medische Genetica, Antwerpen, Belgique
3. Ophtalmologie, CHRU Besançon, Besançon, France

Mots clefs : macrophtalmie, dilatation des grands vaisseaux, anévrysme

Résumé :

La dilatation des grands vaisseaux thoraciques, qu'elle soit syndromique ou non, est hautement hétérogène sur le plan étiologique, avec 23 gènes qui lui sont associés à ce jour. Cependant, aucun ne s'associe à une macrophtalmie.
Nous rapportons ici l'histoire d'une patiente de 31 ans qui a présenté à l'âge de 6 ans une myopie rapidement progressive avec une uvéite antérieure bilatérale associée à HLAB27. Une augmentation régulière du volume des globes oculaires avec exophtalmie s'est poursuivie avec décollement récidivant de rétine. Une dilatation aortique concomitante requérant la tunnelisation de l'aorte ascendante à 18 ans, ainsi qu'une dilatation du tronc artériel brachio-céphalique et une dysplasie carotidienne bilatérale ont fait évoquer l'hypothèse d'une dysplasie du tissu conjonctif. Son atteinte ophtalmologique a conduit à la cécité de l'œil gauche avec *phtisis bulbum* suivi de plusieurs épisodes de déficit neurologique focal ou hémicorporel, attribués à des accidents ischémiques transitoires.
Le séquençage de *TGFBR1, TGFBR2, ACTA2, COL3A1, FBN1,…* n'ayant permis d'identifier de mutation pathogène, le séquençage de l'exome a été réalisé et a indiqué la survenue d'une mutation c.634C > T (p.R212X) de *CCDC51* survenue *de novo* de signification inconnue. Il s'agit d'un gène codant une proteine de fonction inconnue. Une hétérozygotie composite de deux mutations faux-sens de *BCORL1*, c.3158A > G (p.K1530R) et c.185T > C (p.L62P) a également été observée. De manière intéressante, ce gène code une proteine « compagnon » de BCOR dont les mutations sont associées au syndrome oculo-facio-cardio-dental.
Cette observation exceptionnelle de macrophtalmie-dilatation des grands vaisseaux thoraciques et cervicaux reste donc à ce jour sans base moléculaire confirmée.

P737 : Une forme familiale du syndrome oculo-dento-digital: Caractéristiques cliniques et moléculaires

Auteurs :

sana karoui (1), Madiha Trabelsi (1), Ridha Mrad (1)

1. Service des maladies congénitales et héréditaires , Hôpital Charles Nicole, Tunis, Tunis, Tunisie

Mots clefs : dysplasie oculo-dento-digitale GJA1 connexine43

Résumé :

La dysplasie oculo-dento-digitale (ODDD) (OMIM 164200) est une maladie génétique rare, très polymorphe sur le plan clinique. Elle associe une dysmorphie faciale caractéristique avec des atteintes ophtalmologiques et dentaires, des anomalies des extrémités et des signes neurologiques.
L'ODDD est due à des mutations du gène *GJA1* en 6q22.3 et qui code pour la connexine 43 qui est une protéine de jonction communicante. Il se transmet selon le mode autosomique dominant avec une pénétrance complète et une expressivité variable. Néanmoins, quelques cas de transmission autosomique récessive ont été rapportés.
Dans ce travail, nous rapportons les caractéristiques cliniques et moléculaires d'une famille tunisienne chez qui nous avons retenu le diagnostic d'ODDD.
Il s'agit de cinq patients appartenant à trois générations successives. Le sex ratio était de 0,6. L'ODDD a été évoqué cliniquement chez tous les patients devant la présence d'une dysmorphie faciale caractéristique, d'une atteinte des extrémités à type de syndactylie type III et de camptodactylie des doigts, d'une microcornée et des atteintes stomatologiques. Quatre patients présentaient également une atteinte neurologique à type de vessie neurologique et de paraparésie spastique avec un phénomène d'anticipation au fil des générations.
Une analyse de l'exon 2 du gène *GJA1* a mis en évidence la présence à l'état hétérozygote d'une nouvelle mutation à type de délétion de trois adénosines en position 396 (c.396_398delAAA). Il s'agit de la 4ème microdélétion du gène *GJA1* décrite dans la littérature. La délétion touche 2 acides aminés hautement conservés de la région L2 du domaine intra-cytoplasmique de la connexine 43. Cette région joue un rôle crucial dans le fonctionnement de la protéine.
L'étude clinico-génétique de cette famille a permis d'élargir le spectre mutationnel du gène *GJA1* et de souligner l'expressivité variable de ce syndrome en intrafamilial rendant ainsi le conseil génétique plus complexe.

P738 : Le gene USH1C : a propos d'une mutation non sens decouverte chez 2 familles algerienne

Auteurs :

SAMIA ABDI (1), Mohamed Makrelouf (2), Crystel Bonnet (3), Christine Petit (4), Akila Zenati (2)

1. faculté de medecine , université saad dahleb blida, Blida, Algérie
2. Labo de recherche , CHU BABAELOUED, Alger, Algérie
3. Labo de recherche , Institut de la vision, Paris, France
4. Labo de recherche , Institut de la vision,institut Pasteur, Paris, France

Mots clefs : USH1C, mutation non sens , sequencage de l'exome

Résumé :

le syndrome de Usher ests une maladie autosomique recessive qui englobe une surdité de perception et une retinite pigmentaire;
Il est trés heterogene genetiquement , en effet à ce jour 10 gènes sont decrits comme responsables de ce syndrome
Le gene USH1C en fait partie , il est resposable de syndrome de usher de type 1.
Le sequencage à haut debit de l'ADN de patients le phenotype de ce syndrome a permis de decouvrir chez 2 familles algeriennes une nouvelle mutaion non sens .
Le diagnostic genetique du syndrome de usher est indispensable pour la prise en charge precoce du double handicap neurosensoriel

P739 : Syndrome de Fraser : présentation de 2 observations sans cryptophtalmie

Auteurs :

Simon BOUSSION (1), Stanislas Lyonnet (2), Bert A. Van der Zwaag (3), Sylvie Manouvrier-Hanu (1), Catherine Vincent-Delorme (1), Clémence Vanlerberghe (1)

1. Service de Génétique clinique, Hôpital Jeanne de Flandre, Lille, France
2. Service de Génétique, U781, Fondation Imagine, Hôpital Necker-Enfants malades AP-HP, Paris, France
3. Laboratory Specialist Clinical Genetics, University Medical Centre Utrecht, Utrecht, Pays-Bas

Mots clefs : Syndrome de Fraser, FRAS1, cryptophtalmie, corrélation génotype-phénotype

Résumé :

Le syndrome de Fraser (OMIM #219000) est une affection de transmission autosomique récessive, caractérisée par l'association d'une cryptophtalmie, de syndactylies des quatre extrémités et de malformations uro-génitales et/ou laryngo-trachéales. Il est lié aux mutations hétérozygotes composites ou homozygotes des gènes du complexe FRAS/FREM: *FRAS1, FREM2* et *GRIP1*. Nous rapportons deux observations inhabituelles de syndrome de Fraser, sans cryptophtalmie.
La première patiente présentait des syndactylies de trois extrémités, un colobome bilatéral des narines, des oreilles dysplasiques avec surdité de transmission bilatérale, un blépharophimosis et des anomalies des canaux lacrymaux. L'étude du gène *FRAS1* identifiait deux variants pathogènes à l'état hétérozygote composite : le variant non-sens c.10817C>G (p.Ser3606*) dans l'exon 70 et le variant faux-sens c.2894G>T (p.Cys965Phe) dans l'exon 24. La seconde patiente présentait l'association d'une syndactylie membraneuse des quatre extrémités, une agénésie rénale gauche, des malformations laryngées et ano-génitales, des oreilles dysplasiques et une surdité de transmission bilatérale. L'étude du gène *FRAS1* identifiait un variant à l'état homozygote : c.11897dup (p.Asn3067fs), dans le dernier exon du gène.
Nous discutons de la variabilité d'expression observée dans le syndrome de Fraser et de la possibilité de corrélations génotype-phénotype non décrites à ce jour. L'absence de cryptophtalmie ne doit pas exclure le diagnostic de syndrome de Fraser. L'association d'une mutation tronquante et d'une mutation faux-sens ou la présence d'une mutation homozygote tronquante dans le dernier exon de *FRAS1* pourraient être responsables de phénotypes atténués.

P741 : Parotidite récidivante autosomique dominante : une entité méconnue

Auteurs :

Margaux Serey (1), Cabrol Christelle (1), Vallat Jean-Michel (2), Tatu Laurent (3), Loeys Bart (4), Van Maldergem Lionel (1)

1. Centre de Génétique Humaine, CHRU Besançon, Besançon, France
2. Neurologie, CHU de Limoges, Limoges, France
3. Neurologie, CHRU Besançon, Besançon, France
4. Laboratorium voor Moleculaire Biologie, Centrum Medische Genetica, Antwerpen, Belgique

Mots clefs : parotidite récidivante, adulte, familial, hypertrophie parotidienne, parotide

Résumé :

La parotidite récidivante familiale est rare : une seule famille rapportée dans OMIM, 7 si l'on tient compte des familles colligées par Hans-Rudolf Wiedemann. La parotidite récurrente juvénile est une affection fréquente pour laquelle différents facteurs étiologiques ont été proposés, parmi lesquels des mécanismes allergiques, infectieux, auto-immunitaires et malformatifs. Cependant, ces épisodes cessent avec l'âge et sont rares à l'âge adulte. Nous décrivons ici une famille avec parotidite récidivante et hypertrophie parotidienne douloureuse sans amylose ségrégeant sur 3 générations avec peu de variabilité dans l'expression clinique. L'examen attentif des photos de famille suggère d'autres atteints d'après l'hypertrophie des loges parotidiennes qui y est associée. Aucun élément inflammatoire n'est retrouvé. Le cas index présente en outre des signes d'amyotrophie distale non retrouvée chez ses apparentés atteints de parotidite. Le séquençage de l'exome (WES) et les études de ségrégation sont en cours.

P742 : Les données génétiques : Quels risques ? Quelles garanties ? - Ouvrage collectif CNIL

Auteurs :

Olivier Coutor (1), Eric Boucher de Crevecoeur (1)

1. , CNIL, Paris, France

Résumé :

La CNIL vient de publier, avec la Documentation française, un ouvrage consacré aux données génétiques. Privilégiant une approche synthétique, pluridisciplinaire et pédagogique, il s'adresse à un public curieux des sujets de société qui est désireux d'en savoir plus sur la protection des données personnelles en ce domaine.
Les données génétiques ne sont, en effet, pas des données personnelles comme les autres. Particulièrement intimes, de plus en plus signifiantes, potentiellement très discriminantes, elles bénéficient d'un statut légal très protecteur.
Pourtant, leur utilisation tend à se banaliser dans la société. Un véritable marché international se met en place. De nouveaux enjeux éthiques apparaissent, tant pour l'individu que pour la société. Les besoins de régulation n'en sont que plus importants.
Après avoir dressé un panorama des règles et mécanismes de protection applicables à ces données, l'ouvrage présente un état des lieux de l'exploitation, de plus en plus importante, des données génétiques dans un nombre grandissant de domaines : médecine et recherche médicale, bien sûr mais aussi étude des populations, police judiciaire, justice, assurances, alimentation, etc.
Au-delà, il s'agit de mettre en lumière les évolutions sociétales en cours, les enjeux et débats qui en résultent et de relativiser une conception abusivement déterministe de la génétique.
Enfin, l'ouvrage souligne la nécessité d'une régulation internationale pour faire face aux risques de discriminations sociales et de marchandisation des données génétiques.